

**UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

INFECCIONES POR BORDETELLA PERTUSSIS EN MENORES DE UN AÑO

HERBERTH GIOVANNI MALDONADO BRIONES



Tesis

Presentada ante las autoridades de la
Escuela de Estudios de Postgrado de la
Facultad de Ciencias Médicas
Maestría en Ciencias Médicas con especialidad en
Infectología Pediátrica
Para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Médicas con especialidad en
Infectología Pediátrica

Febrero 2015



Facultad de Ciencias Médicas

Universidad de San Carlos de Guatemala

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

HACE CONSTAR QUE:

El Doctor: Herberth Giovanni Maldonado Briones

Carné Universitario No.: 100016521

Ha presentado, para su EXAMEN PÚBLICO DE TESIS, previo a otorgar el grado de Maestro en Ciencias Médicas con Especialidad en Infectología Pediátrica, el trabajo de tesis "Infecciones por bordetella pertussis en menores de un año"

Que fue asesorado: Dr. Mario Augusto Melgar Toledo MSc.

Y revisado por: Dr. Carlos Enrique Sánchez Rodas MSc.

Quienes lo avalan y han firmado conformes, por lo que se emite, la ORDEN DE IMPRESIÓN para febrero 2015.

Guatemala, 28 de enero de 2015


Dr. Carlos Humberto Vargas Reyes MSc.
Director
Escuela de Estudios de Postgrado


Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Programa de Maestrías y Especialidades

/lamo

Guatemala, 22 de enero de 2015

Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Escuela de Estudios de Postgrados
Universidad San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Ruiz:

Atentamente me dirijo a usted, deseándole éxitos en sus labores cotidianas, el motivo de la presente es para informarle que he sido ASESOR del trabajo de tesis titulado:

"INFECCIONES POR BORDETELLA PERTUSSIS EN MENORES DE 1 AÑO"

Realizado por el estudiante **Herberth Giovanni Maldonado Briones**, de la Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Infectología Pediátrica, el cual ha cumplido con todos los requerimientos para su aval.

Sin otro particular por el momento, me suscribo de usted,

Atentamente,



Dr. Mario Melgar Toledo
Infectólogo Pediatra
Hospital Roosevelt
ASESOR

Guatemala, 22 de enero de 2015

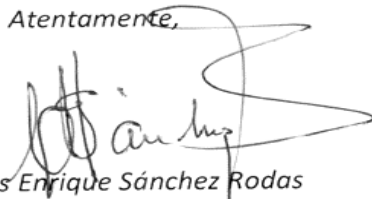
Dr. Luis Alfredo Ruiz Cruz MSc.
Coordinador General
Escuela de Estudios de Postgrados
Universidad San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
Presente

Estimado Dr. Ruiz:

Por este medio le informo que he **REVISADO** el trabajo titulado: "**INFECCIONES POR BORDETELLA PERTUSSIS EN MENORES DE 1 AÑO**" el cual corresponde al estudiante **Herberth Giovanni Maldonado Briones** de la Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Infectología Pediátrica, por lo que le doy mi aval para continuar con los procesos correspondientes.

Sin otro particular, me suscribo de usted.

Atentamente,



Dr. Carlos Enrique Sánchez Rodas
Docente Responsable

Maestría en Ciencias Médicas con Especialidad en Infectología Pediátrica
Universidad San Carlos de Guatemala
Hospital Roosevelt
REVISOR

AGRADECIMIENTOS

A Dios

En El confío

A mi esposa y a mi hija,

Su amor es mi mayor tesoro

A mis padres y hermanos,

A mis colegas,

A mis profesores, amigos y mentores,

A mis colaboradores

Laboratorio Nacional de Salud

Epidemiología Hospital Roosevelt

Residentes de postgrado de Pediatría

INDICE DE CONTENIDOS

	RESUMEN	i
I.	INTRODUCCION	1
II.	ANTECEDENTES	5
III.	OBJETIVOS	25
IV.	MATERIALES Y METODOS	26
V.	RESULTADOS	34
VI.	DISCUSION Y ANALISIS	37
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	46
VIII.	ANEXOS	50

INDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	50
TABLA No. 2	51
TABLA No. 3	52
TABLA No. 4	53
TABLA No. 5	54
TABLA No. 6	54
TABLA No. 7	55
TABLA No. 8	55

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA No. 1	56
GRAFICA No. 2	57
GRAFICA No. 3	57
GRAFICA No. 4	58
GRAFICA No. 5	59
GRAFICA No. 6	60

RESUMEN

La tos ferina es una enfermedad grave en la infancia principalmente en países en desarrollo. El objetivo fue establecer la incidencia de infección por *Bordetella pertussis* (BP) mediante PCR y/o cultivo en menores de un año de edad con cuadro sospechoso de tosferina, determinar las características, coinfecciones y resultado final en niños con tos ferina confirmada por laboratorio.

Método: De Noviembre de 2013 a Octubre de 2014, estudiamos infantes con cuadro sospechoso de tos ferina obteniendo 3 hisopados nasofaríngeos (HNF) para estudio de BP por PCR y Cultivo y virus respiratorios por inmunofluorescencia indirecta y PCR. Se colectaron datos demográficos, inmunizaciones, clínicos y de laboratorio. Utilizamos EpiInfo® 7 y SPSS® para el análisis estadístico y $p \leq 0.05$ fue considerada significativa.

Resultados: En 68 lactantes que cumplieron criterios de inclusión, 28% (19/68) se confirmó tos ferina por laboratorio. PCR fue positiva en 16 (23.5%), PCR + cultivo en 2 (3%) y uno tuvo cultivo positivo pero PCR negativa. Edad promedio 2.7 ± 1.8 meses. Letalidad 36.8%. Estridor inspiratorio (OR 5.2, $p=0.01$) y emesis postusiva (OR 4, $p=0.02$) fueron predictores independientes de positividad a BP por análisis multivariado. Las complicaciones significativas fueron hipertensión pulmonar (RR 2.7, $p=0.04$) y muerte (RR 3, $p=0.07$).

Conclusiones: La tos ferina es una enfermedad frecuente en los lactantes en nuestra institución, el diagnóstico molecular es útil para la confirmación. Infantes menores de 3 meses tuvieron mayor mortalidad y letalidad. Vacunación muy temprana y durante el embarazo podrían disminuir la carga de enfermedad en nuestro país.

I. INTRODUCCIÓN

Bordetella pertussis es la causante de la tos ferina, enfermedad altamente contagiosa que ocupa el quinto lugar dentro de la lista de enfermedades prevenibles por vacunación en menores de 5 años, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay 20 a 40 millones de casos nuevos cada año, el 90% de los casos en países en vías de desarrollo, se registran 300.000 defunciones anuales [37,38].

El cuadro clínico más grave y de peor pronóstico ocurre en menores de 3 meses [5,31]; en lactantes menores de 6 meses, niños inmunizados, adolescentes y adultos, puede presentar un cuadro de evolución atípico. Ocurre endémicamente, aunque pueden ocurrir brotes epidémicos cada 3 a 4 años [21,28].

En la región de Latinoamérica, el número anual de casos se ha incrementado en los últimos 10 años, sobre todo en infantes menores de 1 año a pesar de altas coberturas de vacunación; el diagnóstico a través de biología molecular (PCR) y la reciente modificación en la definición de caso de tos ferina en menores de 1 año de edad ha permitido una mejora en la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad [11,28].

La técnica PCR para el diagnóstico de *B. pertussis* ha sido adoptada gradualmente en la región: Argentina en el 2004, Costa Rica 2007, Brazil 2008, México 2011 [2,11]; en Guatemala ha sido gradualmente introducida durante el año 2012 en la Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del Laboratorio Nacional de Salud (LNS) [22].

En el continente americano el número total de casos anuales registrados oscila entre 15.000 y 34.000 en los últimos diez años. Pese a que en la región las coberturas de vacunación con tres dosis de vacuna antipertussis son mayores al 90%, continuamente se registran brotes en varios países [11]; durante el año 2012 se ha registrado un aumento en el número de casos de tosferina en Argentina [14],

Brasil, Colombia, Chile [11], Guatemala [22], México [2], Paraguay, Venezuela y los Estados Unidos de América [11].

En marzo de 2012, en una reunión convocada por la OPS, expertos de 12 países concluyeron que la enfermedad continua presentándose en menores de 5 años sin esquemas de vacunación completos para su edad [28]. En septiembre de 2012, la OMS convocó una reunión de expertos para discutir la situación actual de la tos ferina en Australia, Canadá, los Estados Unidos de América y el Reino Unido. Los expertos concluyeron que la vacuna anti pertussis acelular (DTaP) tiene limitaciones, y que el problema aún debe ser mejor caracterizado [16].

Estudios previos realizados en Estados Unidos [5], Nueva Zelanda [31], Japón [32] y Panamá [24] identifican al grupo menor de 0 a 2 meses (muy pequeños para vacunación) y al de 3 meses a 1 año (inmunización incompleta) como responsables del mayor número de admisiones hospitalarias (83% a 90%); en este grupo se describen las complicaciones más severas de enfermedad, se han identificado factores de riesgo de mortalidad como hiperleucocitosis, necesidad de ventilación mecánica, e hipertensión pulmonar. El manejo de estos pacientes es complejo y requiere aislamiento de contacto y admisión en unidad de cuidados intensivos, duración de la hospitalización variable y una probabilidad alta de readmisiones por el curso doloso de la enfermedad.

A partir de la introducción de la primera vacuna contra *B.pertussis* a partir de microorganismos enteros inactivados en los años 40 disminuyó rápidamente su incidencia, de un nivel incluso superior al 98%. Inversamente, recrudeció en la década de 1970 en países como Reino Unido, Japón y Suecia, cuando se abandonó su empleo sistemático debido a su relación con complicaciones neurológicas y muertes; en los últimos 15 a 20 años se ha incrementado el número de casos a nivel mundial, principalmente en adolescentes, adultos y en menores de 5 años de edad, con tasas de transmisión del 80 al 100% en poblaciones susceptibles [21,30].

En nuestro país se utiliza la vacuna de células enteras en combinación con toxoide tetánico y diftérico (DTwP), vacuna que produce inmunogenicidad superior al 80%, una tasa de eficacia aproximada del 71%, y tras la administración de 4 dosis una protección del 50% a los 4 a 6 años y ausente a los 12 años[9]. La otra vacuna disponible, la antipertúsica acelular, posee una tasa de eficacia del 75% al 85% tras la administración de 3 dosis con ventaja adicional de que puede ser administrada a pequeños lactantes sin que sean inhibidas por la presencia de anticuerpos maternos, sin embargo evidencia epidemiológica reciente sugiere que la vacuna celular provee protección más duradera que las vacunas acelulares [17]

Existen diferentes técnicas de laboratorio para el diagnóstico definitivo de pertussis: cultivos, Inmunofluorescencia, serología y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) [2,4]. El cultivo continua siendo el estándar de oro del diagnóstico, con una especificidad del 100%, pero con una baja sensibilidad. Si la muestra se toma de un paciente que ha tenido la enfermedad por menos de 3 semanas, la sensibilidad puede ser tan baja como el 15 al 45%, y aún puede alcanzar tan poco como el 3% si la muestra se toma después de la tercera semana de la enfermedad. La técnica de PCR ha mejorado la sensibilidad del diagnóstico, sobre todo en circunstancias en las cuales la probabilidad de aislar el germen por medio de cultivo es baja, con valores de hasta el 100% de sensibilidad y 85.9% de especificidad [2,6,8,19]

En Guatemala, la tos ferina es una enfermedad de notificación obligatoria, según datos obtenidos de base de datos del Laboratorio Nacional de Epidemiología se reportaron del año 2006 al 2011 un promedio de 54 casos de tos ferina por año y no se obtuvo ningún crecimiento de *B.pertussis* por cultivo [22]. En el año 2011 se introdujo el método diagnóstico mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR), obteniendo 4 casos positivos; durante el año 2012 fueron notificados 260 casos sospechosos de tosferina, 27 casos fueron confirmados mediante PCR de 130 pruebas realizadas, no se contó con reactivo suficiente para procesar la totalidad de las muestras. Aunque se conoce que los padres, hermanos y familiares jóvenes juegan un papel importante en la transmisión, aún

es necesario identificar la fuente de *Bordetella pertussis* para el lactante menor. A pesar de ser un grave problema de salud pública en Guatemala, la notificación y vigilancia epidemiológica de tos ferina se encuentra olvidada.

Por lo anterior se realizó el presente estudio clínico observacional sobre la positividad de *Bordetella pertussis* por medio de la técnica PCR y/o cultivo Regan Lowe en menores de 1 año con cuadro sospechoso de tos ferina admitidos en el Hospital Roosevelt, se identificó la fuente de contagio mediante investigación epidemiológica, aunque se realizaron hisopados a algunos contactos o a las madres, no pudieron ser confirmados, se determinaron las características clínicas y de laboratorio, estado de inmunización, hallazgos radiológicos y complicaciones en los casos confirmados y no confirmados de tos ferina y finalmente, se determinó la presencia de infección o coinfección viral.

II. ANTECEDENTES

Tos ferina

La tos ferina (tos convulsa, coqueluche o pertussis) es una enfermedad altamente contagiosa que se transmite a través de secreciones respiratorias, con una tasa de ataque del 70% al 100% en personas susceptibles, siendo los infantes y los niños pequeños los que tienen el riesgo más alto de adquirir la enfermedad [30]. La enfermedad fue nombrada en 1,670 por Thomas Sydenham. Las descripciones de tos ferina datan de 1500, aunque el primer informe epidemiológico fue hasta 1,640 [1].

Microbiología

La tos ferina es causada por *Bordetella pertussis* cocobacilo gramnegativo, capsulado, inmóvil, aerobio facultativo que tiene al ser humano como único reservorio, pertenece al género *Bordetella*. Es fastidioso, sobrevive unas horas en secreciones respiratorias y necesita requerimientos especiales para su crecimiento en medios de cultivo.

El género *Bordetella* incluye 6 especies adicionales: *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*, *B. avium*, *B. hinzii*, *B. holmesii*, and *B. trematum*. *B.pertussis* y *B.parapertussis* son los patógenos humanos más comunes. *B.parapertussis* causa una enfermedad similar a tos ferina de curso más leve. *B.bronchiseptica* causa infrecuentemente infecciones respiratorias en humanos, la mayoría en pacientes inmunosupresos.

Patogénesis

La infección por *B.pertussis* se transmite por aerosoles de gotas durante un episodio de tos. El organismo es inhalado y subsecuentemente se adhiere al epitelio ciliado de la nasofaringe. Ocurre proliferación bacteriana con diseminación a través del epitelio ciliar del tracto respiratorio inferior en el huésped susceptible. En un número pequeño de casos, el organismo avanza a los alvéolos

pulmonares ocasionando neumonía. La bacteria no invade más allá del epitelio respiratorio y raramente ocasiona bacteriemia.

Los aspectos moleculares y celulares de *B.pertussis* son complejos y pobremente entendidos. *B.pertussis* produce un número de sustancias biológicamente activas y factores de virulencia que afectan la adhesión celular, ocasionan daño tisular local o sistémico, e interfieren con los mecanismos de defensa del huésped.

COMPONENTE	CARACTERISTICAS
FIMBRIA	Hay dos tipos (2 y 3), causa aglutinación del organismo, funciona como adhesina.
HEMAGLUTININA FILAMENTOSA (HAF)	Proteína de superficie celular. Funciona como adhesina
TOXINA PERTUSIS (TP) O FACTOR PROMOTOR DE LINFOCITOS (FPL)	La clásica toxina de la bacteria con una subunidad A enzimática y una proteína ligadora B, sensibiliza la histamina, promueve la linfocitosis, estimula secreción de insulina, y actividad mitogénica , proteína de envoltura, adhesina
TOXINA ADENILATO CICLASA	Enzima extracitoplasmática que inhibe la respuesta inmune celular, contribuye al daño del tejido respiratorio, es una hemolisina
TOXINA TERMOLÁBIL O TOXINA DERMONECRÓTICA	Proteína citoplasmática, causa daño local en el tracto respiratorio, produce necrosis dérmica animales
LIPOPOLISACARIDO (ENDOTOXINA)	Causante de la reacción por vacuna con pertussis, actividad similar a endotoxinas, causa aglutinación
CITOTOXINA TRAQUEAL (CT)	Derivado de peptidoglucano, causa daño local en el tracto respiratorio

PERTACTINA	Proteína de la membrana externa adherente importante, el anticuerpo a esta causa aglutinación e incrementa la fagocitosis
FACTOR DE COLONIZACIÓN TRAQUEAL (FCT)	Proteína que se adhiere a la tráquea
BORDETELLA RESISTENTE A FACTOR ASESINO	Proteína de la membrana externa produce resistencia al complemento
SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III	Proteína aún no específica que secreta proteínas en la célula huésped

Epidemiología

Transmisión: Los seres humanos son los únicos reservorios de *B.pertussis*, la transmisión se produce por contacto cercano con enfermos a través de aerosoles de gotitas. Pueden haber portadores asintomáticos durante brotes, pero no se ha demostrado su importancia en la transmisión si no presentan tos.

La tos ferina es una enfermedad altamente contagiosa, las tasas más altas se han reportado en individuos expuestos a tosedores a una distancia de 5 pies o menos. Las tasas de ataque en contactos en casa se han reportado de 50 a 100%. Durante un brote la tasa de ataque puede ser del 10 al 16%. El Período de incubación suele ser de 7 a 10 días, con un límite de 5 a 21 días.

Incidencia: Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay 20 a 40 millones de casos de tos ferina cada año, el 90% ocurren en países en vías de desarrollo. Ocurren 300,000 muertes registradas cada año [38]. La tasa de letalidad es tan alta como 4% en menores de 12 meses [24].

A partir de la introducción de la primera vacuna contra *B.pertussis* a partir de microorganismos enteros inactivados en los años 40 disminuyó rápidamente su incidencia, de un nivel incluso superior al 98%. Inversamente, recrudeció en la

década de 1970 en países como Reino Unido, Japón y Suecia, cuando se abandonó su empleo sistemático debido a su relación con complicaciones neurológicas y muertes; en los últimos 15 a 20 años se ha incrementado el número de casos a nivel mundial, principalmente en adolescentes, adultos y en menores de 5 años de edad, con tasas de transmisión del 80 al 100% en poblaciones susceptibles. Ocurre endémicamente durante todo el año, aunque se producen brotes epidémicos cada 3 a 4 años.[21]

Las posibles causas en el incremento de la incidencia incluyen: 1) pérdida de la inmunidad inducida por vacunación en adolescentes y adultos, pues ni la infección ni la vacunación brindan inmunidad de por vida, la falta de episodios de refuerzos naturales y la desaparición de la inmunidad desde la vacunación en la niñez explican el número creciente de casos de tos ferina en individuos mayores de 10 años. 2) Incremento de la circulación de *B.pertussis* 3) La desaparición de la inmunidad y los escasos anticuerpos transferidos por vía transplacentaria conduce al aumento de la tos ferina en lactantes muy pequeños [3,13,21].

El período máximo de contagio corresponde a la fase catarral y las 2 primeras semanas después del comienzo de la tos. Los factores que inciden en la duración de la transmisibilidad son la edad, el estado de vacunación o episodio previo de tos ferina y el tratamiento antibiótico apropiado.

Poblaciones susceptibles

En la mayoría de países, las epidemias de pertussis ocurren cíclicamente cada 2 a 5 años, la vacunación no ha alterado este patrón. Este fenómeno se atribuye a la acumulación de personas susceptibles en una población y sugiere que mientras la vacunación controla la enfermedad no así la circulación de *B.pertussis*. Las poblaciones infantiles susceptibles son los menores de 1 año, los no inmunizados y los que tienen una inmunización parcial o incompleta. Por razones desconocidas, la prevalencia, morbilidad y mortalidad de la infección por *B.pertussis* se incrementa en el sexo femenino; esta asociación parece incrementarse con la edad avanzada.

Poblaciones no inmunizadas: Los brotes de tos ferina ocurren en poblaciones no vacunadas, en Guatemala existen grupos poblacionales que no aceptan la vacunación por razones culturales y religiosas. De igual forma encontramos esquemas de inmunización incompleta.

Cambio en la distribución de la enfermedad. La incidencia y distribución de tos ferina en la era postvacunal ha alcanzado su pico máximo en lactantes menores de un año [21], este hallazgo se debe probablemente a inmunización incompleta en la infancia y a la pérdida de la inmunidad en los adolescentes y adultos jóvenes, con una disminución de los anticuerpos maternos residuales que se transfieren de forma pasiva al recién nacido [12,15,35].

Adolescentes e infección en adultos. La tos ferina frecuentemente se presenta como una enfermedad leve en adolescentes y adultos [1], frecuentemente es subestimada en el diagnóstico diferencial de episodios de tos prolongada. *B.pertussis* infecta un número considerable de adolescentes y adultos todos los años. El incremento en el reporte de casos y la mejora en el diagnóstico es responsable del incremento en los reportes de casos en adultos. Se ha postulado un rol importante en la pérdida de la inmunidad inducida por vacunas en los adultos [12,36]. Aunque no existe un laboratorio universalmente aceptado como protector, los anticuerpos anti-pertactina son los que han mostrado mayor correlación en protección a contactos en casa [29]. Los anticuerpos a la toxina pertúsica y a las fimbrias también contribuyen a la protección. Los adolescentes y adultos con pertussis representan una significativa fuente de transmisión de *B.pertussis* a niños y adultos susceptibles[27]. La implicación de estos hallazgos llevan a la recomendación de una vacunación “booster” de adolescentes y adultos con vacuna acelular pertúsica para el control de brotes de tos ferina en poblaciones mayores y la prevención de la enfermedad en todos los grupos etáreos [25].

Brotes. Los brotes de tos ferina han sido reportados en varios escenarios incluyendo comunidades, fábricas, campamentos de verano, escuelas y hospitales. Los brotes en trabajadores de salud son de especial interés debido al riesgo de transmisión en pacientes vulnerables [7]

Manifestaciones Clínicas

Las tos ferina es reconocida como una enfermedad respiratoria prolongada acompañada de tos paroxística, seguida de un esfuerzo inspiratorio forzado, causando una “quinta” [1]. Sin embargo, muchos niños infectados con *B.pertussis* no tienen esta típica constelación de síntomas. Las presentaciones atípicas ocurren frecuentemente en niños pequeños y en individuos vacunados. Las características típicas varían dependiendo de la edad y el tiempo desde la última vacunación [4,26,34]. Un diagnóstico temprano es importante para el control de la enfermedad.

Presentación clásica

La tos ferina clásica ha sido llamada “tos de los 100 días” en China. La enfermedad se divide en tres estadios: catarral, paroxístico y convalecencia [1].

Catarral: La fase catarral es similar al resfriado común, con tos leve y coriza, generalmente dura una a dos semanas, la fiebre es infrecuente y si esta presente es de bajo grado. A pesar de la mejoría, la tos gradualmente se incrementa.

Paroxística: La tos persiste y se incrementa su severidad, ocurriendo ataques paroxísticos. La tos clásica de tos ferina es distintiva. El paroxismo es una serie larga de tos durante la cual el niño presenta fatiga y cianosis. La presencia de un esfuerzo respiratorio forzado o “quinta” puede ser observada durante un ataque de tos, pero no siempre esta presente. La emesis post-tusiva ocurre frecuentemente. Los paroxismos ocurren espontáneamente o pueden ser precipitado por estímulos externos.

La fase paroxística dura de 2 a 6 semanas. Los paroxismos se incrementan en frecuencia durante 1 a 2 semanas, permanecen en la misma intensidad durante 2 o 3 semanas y luego disminuyen gradualmente. Las complicaciones ocurren más frecuentemente durante esta fase.

Convalecencia. Finalmente la tos inicia a remitir, y el niño entra en la fase de convalecencia. La tos continua su descenso gradual por semanas a meses.

Episodios de tos pueden reaparecer con infecciones respiratorias superiores en esta fase.

Presentación Atípica

Lactantes: La fase catarral es usualmente muy corta o ausente en niños pequeños. Los síntomas incluyen dificultad a la alimentación, taquipnea y tos. Los paroxismos de tos durante los cuales el niño desarrolla salivación, apnea, cianosis y bradicardia pueden ser las únicas manifestaciones. El niño puede verse bien entre los episodios de tos.

Muchos lactantes con pertussis no exhiben la característica “quinta” silbido o estridor inspiratorio, del 15 al 40% pueden presentarlo [4,26,34]

Debido a que el origen de la infección para la mayoría de lactantes con tosferina es un contacto familiar, la historia de alguien con tos en casa apoya el diagnóstico.

Niños vacunados: Debido a que la vacuna antipertúsica no es 100% eficaz en prevenir la infección, la tos ferina puede ocurrir en niños vacunados. La presentación es menos severa en niños recientemente vacunados. Menor duración de tos, menor incidencia de apneas y de cianosis. Debido a que la presentación de tos ferina generalmente es leve en niños vacunados, la definición de caso clínico que requiere dos semanas de tos tiene el potencial de no incluir casos menos severos en niños vacunados.

Hallazgos de Laboratorio: Aunque el recuento de glóbulos blancos y el diferencial pueden ser normales, el laboratorio predominante no específico que indica infección por *B.pertussis* es una leucocitosis a expensas de linfocitos. El recuento usualmente es $\geq 10,000$ linfocitos/mm³. Leucocitosis marcada ($>60,000$ /mm³) ha sido asociada con incremento en la severidad de tos ferina, neumonía e hipertensión pulmonar [5,31,32]

Hallazgos radiológicos: En tos ferina no complicada, la radiografía de tórax puede ser normal o demostrar leves anomalías como engrosamiento peri bronquial, infiltrados peri hiliares o atelectasias.

Complicaciones: **apnea**, neumonía, pérdida de peso, convulsiones, neumotórax, epistaxis, hemorragia subconjuntival, hematoma subdural, prolapso rectal, incontinencia urinaria y fractura costal.

Apnea. Ocurre casi exclusivamente en lactantes, principalmente en los menores de 6 meses (16%). Se asocia a los paroxismos de tos, pero también ocurre espontáneamente, talvez relacionado a estimulación vagal.

Neumonía. Es la complicación más frecuente de tos ferina. Puede ser una manifestación principal de la infección por *B.pertussis* o el resultado de una infección bacteriana secundaria. La infección primaria se asocia a leucocitosis extrema ($>60,000$ leu/mm³), vasoconstricción pulmonar aguda, que compromete el flujo sanguíneo pulmonar, exacerba la hipoxemia, creando un ciclo vicioso de hipertensión pulmonar. Esta presentación se asocia a mayor mortalidad.

Convulsiones. Ocurren en 1 a 2% de los casos de tosferina reportados en menores de 6 meses y son producto de encefalopatía por hipoxia durante los paroxismos de tos.

Muerte: La mayoría de las muertes ocurren en niños menores de 6 meses, que son muy pequeños para haber completado la serie de vacunas antipertússis. Los factores predictores de muerte estudiados son: edad menor de 2 meses, necesidad de ventilación mecánica, hipertensión pulmonar, leucocitosis y neumonía como presentación inicial [5,31,32].

Diagnóstico

La tos ferina es un diagnóstico clínico; cuando las características clínicas de la enfermedad están presentes, el diagnóstico debe ser considerado y el tratamiento iniciado sin demora. Debido a que el espectro de enfermedad es variado y la presentación puede ser atípica, un alto índice de sospecha debe ser mantenido para realizar el diagnóstico, particularmente en lactantes y niños previamente vacunados. El diagnóstico debe ser considerado en todos los niños, sin importar su estado de vacunación que se presentan con tos de duración mayor a 14 días [4].

Definición de Caso (OMS y CDC)

- Enfermedad aguda con accesos de tos de duración mayor de 14 días que se acompañan de: paroxismos, estridor inspiratorio, vómito post-tusivo
- Durante un brote o después de contacto en casa con un caso conocido, se define como enfermedad con tos por 14 días, no requiere la presencia de características típicas de tos ferina
- En lactantes previamente inmunizados o con inmunización incompleta, debe considerarse una presentación atípica como descrita previamente y un episodio de tos menor o igual a 7 días para sospechar tos ferina

Definición de Caso Confirmado

Podemos definir como caso confirmado de tos ferina, un caso sospechoso confirmado por una prueba de laboratorio, y/o un caso sospechoso con vínculo epidemiológico a un caso confirmado por laboratorio.

Caso confirmado de pertussis por laboratorio, es aquel que cumple con los siguientes criterios:

- *Bordetella pertussis* aislada por cultivo
- PCR positiva para *Bordetella pertussis*
- Determinación de anticuerpos contra la toxina de pertussis: Nivel de TP-IgG > 100 U/ml en convalecencia

Diagnóstico de Laboratorio

Existen múltiples estudios microbiológicos disponibles para confirmar el diagnóstico: cultivo bacteriano, reacción en cadena de polimerasa (PCR), fluorescencia directa de anticuerpos y serología. Solamente el cultivo y la PCR cumplen los criterios para la confirmación de caso. La sensibilidad y especificidad es la siguiente:

Método Diagnóstico	Sensibilidad	Especificidad	Comentario
Cultivo de secreción nasofaríngea	15-80%	100%	“Gold standard” tradicional, sensibilidad disminuida en adultos, previamente vacunados, uso de antibióticos previos, y larga duración de la enfermedad. Depende de la disponibilidad de medio apropiado
PCR en secreción nasofaríngea	61-94%	88-98%	Rápido y mayor sensibilidad que el cultivo, mejores resultados en poblaciones con pobres crecimientos en cultivo, difícil adquisición
Fluorescencia directa de anticuerpos	60-95%	15-100%	Rápido, requiere técnico entrenado, carece de sensibilidad y especificidad, no debe utilizarse para reemplazar el cultivo, no aprobado por CDC
Serología (ELISA)	60-95%	No estudios	Mayormente utilizado en estudios epidemiológicos o ensayos clínicos de vacunas, un título alto de anticuerpos sugiere infección, no aprobado por CDC para confirmar diagnóstico

Aislamiento mediante Cultivo

El cultivo continua siendo el “Gold Standard”, con una especificidad del 100%, pero con una baja sensibilidad. Si la muestra se toma de un paciente que ha tenido la enfermedad por menos de 3 semanas, la sensibilidad puede ser tan baja como el 15 al 45%, y aún puede alcanzar tan poco como el 3% si la muestra se toma después de la tercera semana de la enfermedad.

El método más sensible es la siembra directa y la pre incubación antes del transporte, el cual ha sido llevado a cabo en muchos estudios controlados. El tiempo del transporte de las muestras es crítico y se requiere un medio de transporte que proteja la bacteria. El tiempo de transporte no debe exceder las 48 horas. Durante mucho tiempo se han utilizado medios de cultivo tales como el Regan-Lowe, Bordet-Gengou y Stainer-Scholte. El tiempo de incubación debe ser

por lo menos de una semana, pero se han propuesto periodo de incubación más prolongados.

Reacción en cadena de Polimerasa

Desarrollada por el Dr. Kary Mullis en 1983, La reacción en cadena de la polimerasa (PCR: polymerase chain reaction) es una técnica de amplificación de secuencias de DNA in vitro, su objetivo es obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única copia de ese fragmento original, o molde.

Esta técnica se fundamenta en la propiedad natural de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN, para lo cual emplea ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN recién formadas entre sí tras cada fase de replicación y, a continuación, dejar que vuelvan a unirse a polimerasas para que vuelvan a duplicarlas; su copiado se logra en forma exponencial en cadena de la polimerasa.

Utilizando esta técnica se detectan secuencias de ADN de *Bordetella pertussis* y no requiere como el cultivo, la presencia de bacterias viables (vivas) en la muestra. A pesar de estas ventajas, la PCR puede dar resultados falsos negativos o falsos positivos. Las siguientes son recomendaciones de la CDC para la optimización de esta técnica en el diagnóstico de *B.pertussis*:

Tiempo óptimo para la evaluación mediante PCR para *B.pertussis*

La PCR tiene una sensibilidad óptima durante las primeras 3 semanas de tos cuando el ADN bacteriano todavía está presente en la nasofaringe. A partir de la cuarta semana de tos, la cantidad de ADN bacteriano rápidamente disminuye mientras se incrementa el riesgo de obtener resultados falsos negativos. La prueba de PCR luego de terapia antibiótica también puede resultar en un resultado falso negativo. La duración de la positividad luego del uso de antibióticos no es bien comprendida, pero realizar la prueba luego de 5 días de terapia antibiótica

adecuada es poco probable que sea de beneficio y generalmente no es recomendada.

Toma adecuada de muestra para la prueba PCR para *B.pertussis*

Los especímenes para la prueba con PCR deben ser obtenidos mediante hisopado nasofaríngeo posterior. Los hisopados faríngeos y nasales anterior tienen tasas de recuperación de ADN bajas y no deben ser utilizados para el diagnóstico de tos ferina. Los hisopos pueden ser de polyester (Dacron®), rayon, o nylon. Hisopos de algodón o de alginato de calcio no son aceptables pues inhiben la prueba de PCR. Si es posible los aspirados nasofaríngeos que irrigan la nasofaringe posterior con salino son preferidos sobre el hisopado debido a que este método resulta en una mayor cantidad de ADN bacteriano en la muestra.

Descripción del procedimiento

En cabina de bioseguridad:

Materiales: Vortex, tubos eppendorf de 1.5 ml, pipetas de transferencia, gasas impregnadas de hipoclorito, casa aminoácidos al 1 %

Colocar al tubo más o menos de 400 a 600 µl de casa aminoácidos al 1%, solución salina al 0.5 % o agua HPLC estéril, re suspender varias veces el hisopo en la solución, dar vortex por 10 segundos, escurrir el escobillón contra las paredes, desechar el escobillón y guardar la suspensión a 4 °C hasta su proceso.

Para evitar la contaminación entre las muestras se debe trabajar cada tubo uno por uno limpiando los guantes antes de destapar la siguiente muestra, intercalar tubos con agua cada 5 muestras. O trabajar no más de 12 muestras por proceso.

Extracción: Romper pared bacteriana y liberar el ADN

Método directo:

- 100 µl de muestra + 2 µl de proteinasa K (0.2 mg/ml) incubar por lo menos 1 hora 30 minutos a 65°C o dejarlo toda la noche.

- Inactivar la proteinasa: Incubar la muestra tratada por lo menos 10 minutos a ebullición.
- Centrifugar 3 minutos a 8.000g y transferir el sobrenadante a un tubo eppendorf.
- Métodos de filtración como Qiagen o Roche
- Almacenar el material genético a 20 °C.

Selección de primeros. No se ha definido una región específica de amplificación que pueda ser universalmente recomendada. Sin embargo las utilizadas son la secuencia de inserción 481 y los genes de la región promotora de toxina pertúsica.

Amplificación: Los programas de ciclado son los mismos para IS 481, PT y para IS 1001

1 ciclo	94°C	45 segundos
35 ciclos	94°C	20 segundos
	60°C	10 segundos
	72°C	20 segundos
1 ciclo	72°C	45 segundos
Enfriamiento	4 °C	

Tamaños esperados: IS 481 187 pb, PT 191 pb, IS 498 pb.

Electroforesis

- Agarosa al 2% preparada en Buffer TBE. Colocar bromuro de etidio.
- Colocar 10 µl del producto + 2 µl de buffer carga.
- Correr a 5 y 12 V/cm aproximadamente a 140 Voltios por 10 minutos.
- Visualizar en transiluminador o en fotodocumentador.

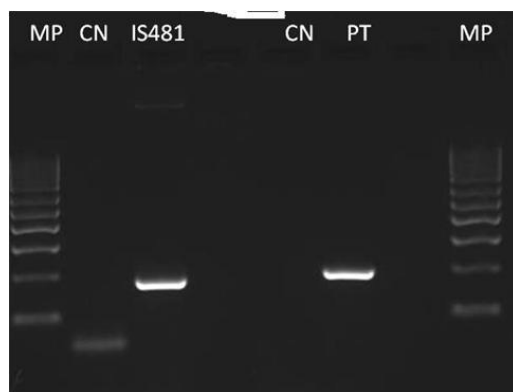


Fig.1 Placa de gel de Agarosa con secuencia IS481 para *B.pertussis*

Serología

La serología es especialmente útil en el diagnóstico tardío de tos prolongada en adolescentes y adultos (más de 3 semanas), con resultados negativos en los cultivos y PCR. Su uso para el diagnóstico de tos ferina en niños no es aprobado por la FDA.

Toma de muestras respiratorias

Bordetella pertussis es una bacteria difícil de cultivar a partir de muestras clínicas. La posibilidad de su aislamiento es mayor cuando: a) el paciente cumple con la definición de caso establecida, b) tiene menos de tres semanas de iniciada la tos, c) no ha recibido tratamiento con antibióticos y d) la muestra se procesa inmediatamente después de su obtención.

Idealmente la inoculación del medio de cultivo primario se debe realizar al pie de la cama del enfermo; sin embargo, si esto no es posible, se debe enviar la muestra al laboratorio inmediatamente después de su obtención (no más de 48 horas). En este caso, los especímenes aceptables para el cultivo son el aspirado y/o hisopado nasofaríngeo, obtenidos de acuerdo al siguiente procedimiento.

Hisopado Nasofaríngeo

1. Inmovilizar la cabeza del paciente

2. Humedecer con agua estéril o fisiológica la punta de un hisopo estéril flexible de dacrón o rayón (no algodón pues es inhibitorio para PCR y alginato de calcio ha mostrado menor resultado en esta misma técnica)
3. Insertarlo con suavidad en uno de los orificios nasales, según se muestra en la imagen
4. Mover el hisopo hacia atrás y hacia arriba a lo largo del tabique nasal hasta que una resistencia evidencie que se ha llegado a la parte posterior de la faringe
5. Mantener el hisopo en el lugar por 10 segundos (esto puede provocar tos y lagrimeo)
6. Remover el hisopo lentamente
7. Introducirlo inmediatamente en un tubo estéril con tapadera
8. Desechar los materiales utilizados en bolsa de bioseguridad roja.

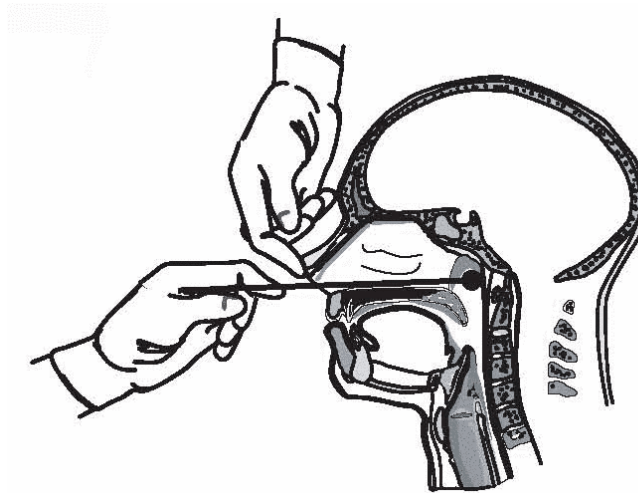


Fig. 2 Técnica de Hisopado Nasofaríngeo

Diagnóstico Diferencial:

Síndrome Coqueluchoide: Otras causas de enfermedad prolongada y esporádica son *Bordetella parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia Trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica* y algunos virus del aparato respiratorio, en particular adenovirus y virus sincitial respiratorio.

Causas no infecciosas: aspiración de cuerpo extraño, asma, reflujo gastroesofágico, neumonía aspirativa.

Terapia de Soporte

Constituye el manejo angular de la infección por *B.pertussis*, incluye hospitalización para monitoreo respiratorio, líquidos o soporte nutricional. Se deben evitar desencadenantes de los paroxismos de tos (ejercicio, temperaturas frías, succión nasofaríngea).

Indicaciones de Hospitalización

- Distrés respiratorio, incluyendo taquipnea, retracciones, aleteo nasal, quejido y uso de músculos accesorios
- Evidencia de neumonía
- Incapacidad de alimentarse
- Cianosis o apnea, con o sin tos
- Convulsiones

Criterios de Alta Hospitalaria

Mínimos [20]:

- Que el niño pueda tolerar los episodios de tos sin cursar con hipoxemia y/o bradicardia
- Que la alimentación adecuada para incrementar peso
- Que los padres muestren seguridad y confianza con la mejoría de la enfermedad
- Seguimiento cercano del paciente

Criterios para evitar reingreso

- ≤ 1 episodio de cianosis al día
- ≤ 2 episodios paroxísticos en el último día
- No episodios de cianosis en el día previo al alta

Tratamiento Coadyuvante

Broncodilatadores: no se ha demostrado mejoría con su uso. Algunos expertos sugieren se utilice una prueba de beta-agonistas inhalados para niños con dificultad respiratoria. No se han reportado riesgos de su uso en pacientes con tos ferina [18].

Corticosteroides: reportes anecdóticos han sugerido un beneficio clínico de su uso, no se ha observado beneficio en ensayos clínicos pequeños. Su uso de rutina no es recomendado.

Antitusivos: El uso de antitusivos y supresores de la tos opioides deben ser evitados. No tienen beneficio terapéutico y la sedación puede ser adversa especialmente en niños pequeños.

Inmunoglobulina a *B.pertussis*: Los preparados de inmunoglobulina no son evaluados de rutina para anticuerpos a pertussis, no ofrecen un beneficio clínico para el paciente. La preparación de Inmunoglobulina enriquecida con anticuerpos a *B.pertussis* si ha demostrado mejoría en la frecuencia de accesos comparado con controles, sin embargo no existe estudios adicionales y no está disponible comercialmente.

Oxigenación con membrana extracorpórea: En niños con insuficiencia respiratoria severa e hipertensión pulmonar secundario a tos ferina ha sido utilizado, no estudios que evalúen su eficacia.

Leucodepleción. La combinación de oxigenación con membrana extracorpórea y un filtro de leucocitos o doble exanguinotransfusión en niños con leucocitosis extrema han sido reportados en algunos reportes de caso con resultados variables, no hay evidencia suficiente para recomendar su uso.

Terapia Antimicrobiana

La terapia antimicrobiana, cuando se administra tempranamente tiene 2 objetivos: puede acortar la duración de los síntomas y disminuir la transmisión en contactos susceptibles (mayor contagio en la fase catarral hasta 2 semanas después del inicio de la tos)

Indicaciones del tratamiento

Se recomienda el tratamiento para todos los niños con tos ferina clínica (con o sin confirmación de laboratorio).

Se recomienda el tratamiento para los niños con tos ferina confirmada por cultivo o por reacción en cadena de polimerasa (PCR), aún si el paciente está asintomático al momento de la confirmación.

La obtención de la confirmación puede tomar algunos días o semanas, dependiendo de los recursos del laboratorio y los métodos disponibles. Consecuentemente, la terapia antimicrobiana debe ser iniciada basada en un alto grado de sospecha clínica.

Elección del agente [1]

< 1 mes	Azitromicina 10mg/kg/día IV por 5 días Alternativas Eritromicina 40mg/kg/día PO cada 6 horas por 14 días
1 a 5 meses	Claritromicina 15mg/kg/día PO cada 12 horas por 7 días Alternativas Azitromicina 10mg/kg/día PO o IV por 5 días Eritromicina 40mg/kg/día PO por 14 días > 2 meses: TMP/SMX 8mg/kg/día PO en base al TMP por 14 días
> 6 meses	Claritromicina 15mg/kg/día PO cada 12 horas por 7 días Alternativas Azitromicina 10mg/kg/día PO primer día y luego 5 mg/kg/día PO por 4 días. Eritromicina 40mg/kg/día PO cada 6 horas por 14 días TMP/SMX 8mg/kg/día PO en base al TMP por 14 días

Adolescentes y adultos	Claritromicina 500mg BID por 7 días
Enfermos y Contactos cercanos	Alternativas Azitromicina 500 mg PO día 1 y luego 250 mg PO por 4 días Eritromicina 500 mg PO cada 6 horas por 14 días TMP/SMX 160/800mg PO cada 12 horas por 14 días

Efectos Adversos. La administración de eritromicina oral para el tratamiento o profilaxis postexposición para el tratamiento de la tosferina ha sido asociada con estenosis hipertrófica del píloro. El mayor riesgo parece ocurrir en lactantes a los que se dan el medicamento dentro de las dos primeras semanas.

Inmunidad

La Academia Americana de Pediatría recomienda que los niños pequeños que se hayan enfermado con tos ferina completen el esquema de vacunación primaria con vacuna DTwP o DTaP [1].

Profilaxis Antimicrobiana

La profilaxis postexposición en contactos asintomáticos dentro de los 21 días del inicio de tos en el caso índice puede prevenir el desarrollo de síntomas. La utilidad después de 21 días no está establecida. Se recomienda la profilaxis para los contactos cercanos del caso índice y para los individuos expuestos de alto riesgo de complicaciones.

Contactos cercanos

- Exposición cara a cara a un metro de un paciente sintomático
- Contacto directo con secreciones nasales, orales o respiratorias de un paciente sintomático
- Compartir el mismo espacio en proximidad con un paciente sintomático por un período ≥ 1 hora

Factores de Riesgo para tos ferina severa o complicada

- Lactantes menores de un año, particularmente aquellos menores de 4 meses
- Personas con inmunodeficiencias
- Personas con condiciones médicas subyacentes (enfermedad pulmonar crónico, insuficiencia respiratoria, fibrosis quística)
- Mujeres en el tercer trimestre de embarazo deben recibir profilaxis postexposición

Otras medidas de Prevención

Medidas estándar así como de aerosoles (mascarilla) son recomendadas para niños con tos ferina que son admitidos en el hospital.

Estas precauciones deben ser efectuadas hasta 5 días después de la instauración de la terapia antimicrobiana o tres semanas después del inicio de los síntomas en pacientes no tratados.

Vacunación

La inmunización contra *B. pertussis* ha reducido dramáticamente la carga de enfermedad de la era prevacunal. Las vacunas usadas inicialmente utilizan células enteras en combinación con toxoide tetánico y diftérico. La asociación entre efectos adversos severos de este tipo de vacuna motivo el desarrollo de vacuna pertúsica acelular (que contiene antígenos purificados de pertussis).

La vacuna de células enteras combinada como DTwP tiene un 70-90% de eficacia después de la tercera dosis, ofrece una protección por 5 - 10 años, son comunes las reacciones locales adversas tras su administración.

Vacuna Acelular (DTaP) es una vacuna de subunidades purificadas

Esquema de vacunación: 2, 4, 6 meses de vida y refuerzo a los 15 o 18 meses, quinta dosis: antes de los 4 años de edad, se recomienda utilizar mismo producto de vacuna 3 primeras dosis de vacunación, las reacciones adversas reportadas son: reacciones locales, febrículas

III. OBJETIVOS

3.1 GENERALES

- 3.1.1 Establecer la incidencia de infección por *Bordetella pertussis* mediante PCR y/o cultivo en menores de un año de edad hospitalizados que cumplan con definición de caso sospechoso de tos ferina
- 3.1.2 Identificar la fuente de contagio del hogar de los pacientes con cuadro sospechoso de tos ferina mediante investigación epidemiológica, cultivo y/o PCR

3.2 ESPECÍFICOS

- 3.2.1 Calcular la tasa de hospitalización por *B.pertussis* en menores de 1 año en el Hospital Roosevelt
- 3.2.2 Determinar la letalidad de *B.pertussis* en menores de 1 año
- 3.2.3 Describir las características clínicas y de laboratorio, estado de inmunización, hallazgos radiológicos y complicaciones en los casos confirmados y no confirmados de tos ferina.
- 3.2.4 Determinar si existen casos de co-infección con virus respiratorios

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1 Tipo de Estudio

Estudio clínico observacional no experimental

4.2 Población:

Niños menores de 1 año admitidos al Hospital Roosevelt durante el período comprendido del 1 de noviembre 2,013 al 31 de octubre de 2,014

4.3 Selección y tamaño de la muestra:

Fueron incluidos en el estudio todos los niños que cumplieron los criterios de inclusión durante el tiempo en que se llevó a cabo el estudio, por lo tanto no hubo muestra.

4.4.1 Criterios de Inclusión

- Consentimiento informado por escrito del padre, madre o tutor
- Niños menores de 1 año hospitalizados, que cumplan definición de caso sospechoso de tos ferina, que será para este estudio
 - **En menores de 3 meses de edad:** Síntomas clínicos inespecíficos de infección del tracto respiratorio superior que conducen a cianosis, apnea y/o bradicardia, desencadenados por estímulos (incluyendo tos) y/o presentar tos que puede ser incluso menor a 1 semana de duración.
 - **En mayores de 3 meses de edad:** Tos de duración mayor a 1 semana asociada al menos a uno de los siguientes: Tos paroxística o en accesos, “estridor” inspiratorio, vómito, cianosis y/o apnea inducidos por tos

4.4.2 Criterios de Exclusión

- Paciente cuya(s) muestra(s) se consideren inadecuadas por cualquier motivo

- Rechazo a otorgar consentimiento informado por el padre, madre o tutor

4.4.3 Criterios de inclusión del contacto del hogar considerado el caso índice

- Sintomático respiratorio dentro del hogar que presento inicialmente un cuadro inespecífico catarral, acompañado de tos en paroxismos o no y que se considera tuvo contacto directo con el paciente en quien se sospecha tos ferina.

4.5 Variables estudiadas

1. Edad
2. Sexo
3. Procedencia
4. Dosis de vacunas anti *B.pertussis* administradas
5. Manifestaciones Clínicas
6. Hallazgos radiológicos de Neumonía
7. Uso previo de antibióticos
8. Tratamiento con Macrólidos
9. Días de hospitalización
10. Complicaciones
11. Recuento leucocitario y diferencial en sangre periférica
12. Positividad a *B.pertussis* mediante técnica PCR
13. Positividad a *B.pertussis* en Cultivo Bordet-Gengou
14. Positividad a Virus respiratorios mediante Inmunofluorescencia o PCR multiplex
15. Investigación epidemiológica de contactos

4.6 Operacionalización de las Variables

Variable	Definición Operacional	Escala
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha actual referido por la madre, padre y/o	Meses

	encargado. Anotada en meses cumplidos	
Sexo	Diferenciación entre hombre y mujer según características morfológicas anotando femenino o masculino	Masculino Femenino
Procedencia	Lugar de residencia permanente, anotando dirección completa	Zona, municipio, departamento
Dosis de vacuna anti-pertussis administrada	Número de dosis de vacuna anti-pertussis administrada corroborada mediante entrevista o carné de vacunación.	Ninguna 1 dosis 2 dosis 3 dosis
Manifestaciones Clínicas	Signos y síntomas identificados mediante examen clínico dirigido: Tos, estridor o silbido inspiratorio, cianosis, fiebre, estertores, vómitos postusivos, apnea, convulsiones	Si No
Hallazgos radiológicos de Neumonía	Presencia de infiltrado en uno o más lóbulos pulmonares (alveolar, intersticial o mixto)	Si No
Uso previo de antibióticos	Administración de antibióticos por los padres en los últimos 5 días previos a la admisión hospitalaria.	Si No
Tratamiento Con Macróidos	Administración de macrobios Azitromicina, claritromicina	Si No
Días de hospitalización	Tiempo en días contados a partir de la admisión hasta el alta o la defunción. Anotar los días de estancia en UCIP y encamamiento por separado	Número de días
Complicaciones	Consecuencias propias del daño producido por una enfermedad: Hemorragia subconjuntival, hemorragia intracraneana, hipertensión pulmonar, convulsiones, neumonía, uso de ventilación mecánica, muerte	Si No
Recuento Leucocitario y diferencial en sangre periférica	Recuento de glóbulos blancos y diferencial en una muestra de sangre periférica mediante citometría de flujo,	Leucocitos /mm ³ Recuento Total y Porcentaje de Linfocitos

	anotada en valores totales y porcentajes	/mm3
Positividad a <i>B.pertussis</i> mediante PCR	Identificación de ADN de <i>B.pertussis</i> mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa de una muestra de hisopado nasofaríngeo	Si No
Positividad a <i>B.pertussis</i> en Cultivo Bordet-Gengou	Aislamiento de <i>B.pertussis</i> de una muestra de hisopado nasofaríngeo mediante identificación morfológica y determinación de catalasa-oxidasa de la colonia en el cultivo Regan-Lowe	Si No
Positividad a virus respiratorios por Inmunofluorescencia indirecta o PCR multiplex	Detección de infección viral en células epiteliales por Inmunofluorescencia indirecta y/o Detección de ARN o ADN de virus en muestras de hisopado nasofaríngeo por método de reacción en cadena de la polimerasa	Si No (Método PCR multiplex en tiempo real para VSR, Influenza A y B, Parainfluenza I,II y III, metaneumovirus, adenovirus)
Investigación epidemiológica de contactos	Cualquier contacto intradomiciliario que presente síntomas respiratorios (Rinorrea, tos, etc.), de un paciente con tos ferina confirmado o no por PCR o cultivo, en los siguientes grupos: <ul style="list-style-type: none"> • Padre y/o madre • Hermanos • Otros 	Si No

4.7 Proceso de Investigación

4.7.1 Autorización del Protocolo de Investigación por el Comité de Investigación y ética del Hospital Roosevelt

4.7.2 Enrolamiento de pacientes: se realizó vigilancia activa por parte del investigador principal en los servicios de emergencia, aislamiento de infantes y unidad de cuidados intensivos/intermedios, se solicitó a los

médicos residentes de pediatría la notificación de nuevos casos durante fines de semana.

- 4.7.3** Consentimiento: El investigador principal solicitó consentimiento informado a los padres o encargados para la participación en el estudio.
- 4.7.4** Recolección de datos: El investigador principal procedió a llenar la boleta de recolección de datos diseñada, así como la ficha de notificación epidemiológica.
- 4.7.5** Se asignó a cada sujeto enrolado una codificación interna utilizando el prefijo TOS y un correlativo iniciando en 001.
- 4.7.6** Toma de muestras: El investigador procedió a tomar las muestra nasofaríngeas utilizando la siguiente técnica:
- a. Colocar la cabeza del paciente en un ángulo aproximado de 70 grados.
 - b. Introducir un hisopo de poliéster o dacrón estéril flexible con suavidad a través de la fosa nasal hasta la nasofaringe. Con el hisopo dentro de la nasofaringe rotarlo suavemente, esto facilita a que las células se queden ancladas en la cabeza del hisopo, e inmediatamente colocarlo en el medio de transporte Reagan-Lowe, en caso de estar disponible. Quebrar si es necesario la porción excedente del mango del hisopo, su transporte no debe exceder 24 horas, en caso de haber recibido tratamiento antibiótico previo o enfermedad prolongada mayor de 14 días se diferirá la toma de cultivo.
 - c. Introducir un segundo hisopo de poliéster o dacrón estéril flexible suavemente a través de la otra fosa nasal hasta la nasofaringe. Rotarlo suavemente como en el inciso b, e Inmediatamente colocar el segundo hisopo en el tubo hermético de plástico o vidrio, estéril con casaminoácidos al 1% o en un tubo sin aditivos. Su transporte no debe demorar más de 4 días
 - d. Introducir un tercer hisopo de poliéster o dacrón estéril flexible suavemente a través de cualquier fosa nasal hasta la

nasofaringe. Rotarlo suavemente como en los anteriores incisos e inmediatamente colocarlo en el medio MVT (Medio transporte viral) para realizar Inmunofluorescencia o PCR para virus. Su transporte no debe demorar más de 4 días.

- e. Colocar todos los tubos en una gradilla a temperatura de refrigeración (2-8°C) hasta su envío a la Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del Laboratorio Nacional de Salud (LNS).

4.7.7 Envío de las muestras: Las muestras fueron enviadas a UCREVE del LNS a través de la sección de Epidemiología del Hospital Roosevelt; las muestras fueron identificadas con la codificación diseñada y acompañada de la ficha de notificación epidemiológica de tos ferina para el paciente y ficha de vigilancia centinela de Influenza para hisopado de virus.

4.7.7 Detección de *B.pertussis* por detección de ADN: En Laboratorio de Biología Molecular de UCREVE, se realizó la detección de ADN de *B.pertussis* por reacción en cadena de polimerasa de *B.pertussis*, utilizando la secuencia de primers I481 con revelación utilizando la técnica de electroforesis en gel.

4.7.8 Detección de *B.pertussis* por cultivo: En Laboratorio de Bacteriología de UCREVE, se realizó la inoculación en medio de cultivo Bordet-Gengou y posterior incubación durante una semana para la identificación morfológica y bioquímica de *B.pertussis*.

4.7.9 Detección de Virus: En Laboratorio de Virología de UCREVE, se realizó Inmunofluorescencia indirecta o PCR multiplex en tiempo real para virus respiratorios (VSR, HIA, HIB, MPV, Adenovirus, PI1, PI2, PI3) en caso de IFI negativa

4.7.10 Base de datos: Los datos obtenidos fueron almacenados en una base de datos de Microsoft Excel®, utilizando un formulario diseñado en EPI INFO 7®.

4.7.11 Análisis estadístico con EPI INFO 7® y SPSS®

- 4.7.12** El Departamento de Estadística proporcionó el número de hospitalizaciones en menores de 1 año en el período de tiempo de del estudio para el cálculo de la tasa de hospitalización
- 4.7.13** La tasa de letalidad se calculó dividiendo el número de muertes de pacientes con infección por *B.pertussis* entre el número total de casos positivos a infección por *B.pertussis*
- 4.7.14** Se procedió a elaborar el Informe Final de Investigación para su revisión y aprobación

4.8 Análisis Estadístico

Para la estadística descriptiva se utilizaron proporciones. Para las variables continuas se utilizó la mediana. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de la mediana para muestras independientes t de student. Se utilizó el test de X^2 con corrección de Yates y prueba exacta de Fisher con doble cola para variables cualitativas, considerando una $p < 0,05$ como límite de significación estadística

4.9 Procedimientos para garantizar aspectos éticos de la investigación

Este estudio no fue experimental, no se realizaron procedimientos diferentes a los establecidos comúnmente para el diagnóstico y tratamiento de tosferina. Se consideró el riesgo de traumatismo por el procedimiento de hisopado nasofaríngeo; este mínimo riesgo pudo generar dolor leve, malestar, o lesiones mínimas de la nasofaringe, siendo sin embargo este un procedimiento avalado por guías locales e internacionales para el diagnóstico de tosferina

- En relación con el diseño: No se llevó a cabo ninguna intervención que alterase el estado de salud del niño ni del contacto.
- Ética colectiva e individual: Los individuos y la comunidad, no fueron expuestos a riesgos que pudiesen afectar su salud.
- Inconvenientes para los participantes: Molestia en el momento de tomar la muestra y para los padres en el momento de responder a las preguntas.

- El manejo integral del paciente, fue llevado a cabo de acuerdo con el médico que presta la atención e independiente de la participación en este estudio.
- Participar en este estudio no implicó beneficios económicos a quienes aceptaron participar.

V. RESULTADOS

El presente estudio clínico observacional tiene como objetivo principal determinar la positividad de *B. pertussis* por la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) y/o cultivo tradicional Bordet-Gengou y de identificar la fuente de contagio en el hogar mediante investigación epidemiológica, cultivo y/o PCR. Son objetivos específicos la caracterización clínica y de laboratorio, estado de inmunización, complicaciones y determinar si existe coinfección por virus respiratorios.

68 sujetos que cumplieron criterios de inclusión fueron estudiados. Se confirmó infección por *B.pertussis* en 19 (28%), 16 a través de PCR, 2 por PCR y cultivo y 1 tuvo cultivo positivo pero PCR negativa. En este estudio, la positividad a *B.pertussis* por PCR fue del 30.5% (18/59) y a cultivo fue del 6.8% (3/44). (Ver tabla No.1)

El 74% (50/68) de los casos correspondió a infantes menores de 4 meses, 54% (37/68) de sexo masculino, la mayoría de casos (96%) originarios de los municipios del departamento de Guatemala. (Ver tabla No.2 y gráfico No.3)

El 75% (51/68) de los sujetos estudiados no contaba con ninguna dosis de vacuna del esquema de inmunización primaria (DTwP). Excluyendo a los menores de 2 meses que son muy pequeños para ser vacunados, el porcentaje de pacientes que no había empezado su esquema primario (0 dosis) fue del 56% (22/39). En los niños mayores de 6 meses, solo el 28% (2/7) había completado su esquema primario de 3 dosis (ver tabla No.3)

Las manifestaciones clínicas, imágenes radiológicas y recuentos de leucocitos y linfocitos se resumen en la tabla No.4

Utilizando análisis univariado de variables, se determinó que las variables clínicas que mostraron significancia estadística fueron la presencia de estridor OR 5.2 (1.5-18.16) (p 0.01) y vómito postusivo OR 4.06 (1.26-13.07) (p 0.029).

La duración promedio de los días antes del diagnóstico fue de 8 ± 5.8 días en los casos confirmados y de 10.6 ± 7.3 días en los casos no confirmados. No hubo diferencia estadística significativa.

Las medias de recuento de leucocitos totales, linfocitos totales y porcentajes se muestran en la Tabla No.4; Se realizó comparación de medias de recuentos leucocitarios y linfocitarios totales utilizando la prueba de la mediana para muestras independientes t de student, hubo diferencia estadística significativa ($p=0.017$ y $p=0.001$), la media de leucocitos totales fue de 41774 ± 22842 en los casos confirmados y de 18302 ± 14627 para los casos no confirmados. En los casos confirmados la leucocitosis más elevada fue de 100,000 y la menor de 17,350.

Las complicaciones presentadas que fueron estadísticamente significativas la presencia de hipertensión pulmonar OR 2.7 (1.3-5.6) (p 0.047) y muerte OR 3.02 (1.54-5.92) (p 0.007)

El promedio de estancia hospitalaria entre casos confirmados y no confirmados fue de 8.72 ± 5.9 y 9.5 ± 6.9 días respectivamente.

En los casos confirmados hubo defunción en 7 de los 19 pacientes (36.8%), siendo más alta en el grupo menor de 3 meses (67%) (Ver tabla No.5)

Mediante entrevista se identificó el posible contacto enfermo en el hogar en el 44% de los casos (30/68), se realizaron hisopados nasofaríngeos a 7 contactos que fueron negativos por PCR, se realizaron 15 hisopados nasofaríngeos en las madres que fueron negativos. (Ver gráfica No.6)

Se identificaron 3 coinfecciones virales (adenovirus, influenza A y Parainfluenza 1) en los casos confirmados. En los casos no confirmados se identificó infección viral en el 40% (17/40) de los casos a los que se realizó hisopado viral (9 virus sincitial respiratorio, 2 adenovirus, 2 influenza A, 1 influenza B, 3 parainfluenza III). (Ver tabla No.6)

El tratamiento más utilizado en los pacientes con cuadro sospechoso de tos ferina fue Azitromicina en el 49.2% (31/63) y Claritromicina en el 44.4% (28/63). (Ver tabla No.7)

Durante el período del estudio de 1 año calendario (Noviembre 2013 a Octubre 2014) fueron admitidos un total de 1585 niños menores de 1 año por enfermedad común en el área de Pediatría, se excluyeron los ingresos por especialidades (cirugía, ortopedia, nefrología). La tasa calculada de tos ferina en el Hospital Roosevelt fue de 12/1000 egresos. (Ver tabla No.8)

La gráfica No.4 y 5 muestran la curva epidemiológica según semana epidemiológica y según mes durante el período en que se llevó a cabo el estudio.

La gráfica No.7 y 8 muestran la dispersión del recuento de leucocitos y linfocitos en los casos confirmados y no confirmados.

VI. DISCUSION Y ANALISIS

Positividad a *B.pertussis*

Se incluyeron 68 casos de menores de 1 año con cuadro sospechoso de tos ferina, se confirmaron 19 infecciones por *B.pertussis*, la positividad por PCR fue de 30.5% y por cultivo 6.8%.

Gentile y cols. [14] han reportado recientemente en el Hospital Ricardo Gutiérrez en Argentina positividad por PCR del 38% (236/620) durante un período de 8 años (2003 al 2011). En Panamá, Nieto Guevara y cols. [24] reportó en el período 2001-2008 una positividad por PCR del 23.7% (178/759) y por cultivo 2 casos en el Hospital del Niño durante ese período de tiempo. En Uruguay, Quian y cols. [27] reportaron una positividad de PCR del 15% (25/200), siete de ellos tuvieron aislamientos por cultivo. Los resultados de positividad por la técnica PCR son consistentes con otras publicaciones en la región; en el caso de cultivo, resaltamos que a través de este estudio fue posible obtener el primer aislamiento de *B.pertussis* en un período de 10 años en el Laboratorio Nacional de Salud. Los laboratorios de microbiología de los hospitales de referencia en todo el país ya no cuentan con los medios de cultivo específico para el crecimiento de *B.pertussis*. Hoy en día existe un interés creciente por determinar si existen mutaciones en los genes que codifican proteínas de la pared de *Bordetella pertussis* y si esto interfiere en la respuesta protectora a las vacunas celular y acelular; es claro que es necesario reintroducir las técnicas de cultivo de *Bordetella pertussis*

Limitaciones del estudio. La baja positividad de *B.pertussis* por cultivo en este estudio explica por un error en el transporte de la muestra: se utilizaron dos medios de transporte: inicialmente casaminoácidos al 2% (método alternativo para transporte de muestras para realizar PCR) y posteriormente Regan-Lowe con el que se obtuvieron los 3 aislamientos de *B.pertussis*; para el transporte hasta su siembra final debe ser utilizado en todos los casos este último o bien, su siembra directamente en el medio de cultivo selectivo Bordet-Gengou.

Investigación epidemiológica de contactos

Como segundo objetivo principal este estudio pretendió determinar el contacto sintomático que produjo la infección en el hogar mediante investigación epidemiológica, PCR y/o cultivo. Se determinó el probable contacto en 44% de los casos (28/63), sin embargo hubo limitación para la toma de muestra en el contacto por diversos factores (trabajo, distancia, negativa a colaborar), lográndose únicamente la toma de hisopados nasofaríngeos en 7 contactos, todos negativos por PCR. En casos seleccionados se decidió realizar toma de muestra a la madre, realizándose 15 hisopados nasofaríngeos todos negativos. En el estudio de 25 casos de Quian y cols. [27] en Uruguay, en 17 (68%) de los 25 hogares (donde se estudiaron en total 70 contactos), se identificaron 32 casos (46%) que cumplían con los criterios de contacto confirmado; 20 de esos 32 (62,5%) tenían 18 o más años, y en 13 casos, se trataba de la madre. En México [2], en 70 madres de niños confirmados con *B. pertussis*, el 26% tenían una PCR positiva; datos preliminares en Argentina [13] muestran que los padres fueron el origen de la infección en el 32% de los casos.

Limitaciones del estudio. Aunque este fue considerado un objetivo principal del estudio, no pudo ser confirmado ninguno de los contactos identificados mediante entrevista, las limitaciones principales fueron: inaccesibilidad al contacto para toma de muestra por falta de recursos para coordinar el transporte y compensación por tiempo. A través de coordinación con Inmunoprevenibles del Centro Nacional de Epidemiología se investigaron contactos comunitarios en 3 casos confirmados pero ningún hisopado fue positivo.

Caracterización demográfica de los sujetos de estudio

Edad de presentación

El diseño de este estudio fue dirigido a los infantes menores de 1 año, grupo que en todas las publicaciones presenta la mayor morbilidad; el 74%

de los sujetos estudiados (50/68) tenía una edad menor de 4 meses. La media de edad en los casos confirmados fue de 2.9 ± 1.7 meses; en la serie de Gentile y cols. [14] en Argentina la media fue de 3 meses, en el estudio de Nieto Guevara y cols. [24] en Panamá el 60% de los casos estudiados eran menores de 3 meses.

Limitaciones del estudio. La mayor parte de sujetos del estudio provenían de los municipios del Departamento de Guatemala con ubicación geográfica cercana o con mayor acceso al Hospital Roosevelt; este estudio no puede determinar la situación de tos ferina en Guatemala, es necesario realizar un estudio multicéntrico a través de vigilancia de tos ferina en la red de salud nacional.

Estado de Inmunización

Particularmente este grupo es muy pequeño en edad para ser vacunado o cuenta con una o ninguna dosis al momento de cursar con la infección de *B.pertussis*. En nuestro estudio, el caso confirmado con menor edad fue de 23 días. El 74% de los casos confirmados (14/19) tenían una edad menor de 4 meses.

El estado de inmunización de los casos estudiados debe interpretarse de acuerdo a la edad: en los niños que se encontraban aptos para ser vacunados, es decir mayores de 2 meses, el 56% (22/39) no habían iniciado el esquema de vacunación primario con vacuna DTwP (0 dosis). En los niños mayores de 6 meses 29% (2/7) habían completado el esquema primario de 3 dosis. En los estudios de referencia [14:27], en Uruguay 40% y Argentina el 48% de los casos no habían iniciado el esquema de vacunación primaria. Existen estudios sobre seguridad y eficacia para iniciar el esquema de vacunación tempranamente, que podría ser una estrategia nacional para las regiones donde ocurren brotes de tos ferina. [10:39]

Limitaciones del estudio. Aunque llama la atención estos datos de niños aptos para ser vacunados que no han iniciado un esquema de vacunación primaria no solamente por tos ferina sino por otras enfermedades inmunoprevenibles (difteria,

tétanos, *h.influenzae* tipo b, neumococo, hepatitis b), los datos recolectados fueron obtenidos por medio de entrevista, revisión de expediente y ocasionalmente se confirmó su veracidad con el carné de vacunación; estos datos tampoco reflejan las coberturas de vacunación.

Caracterización clínica y de laboratorio, complicaciones y muerte

Este estudio evaluó mediante análisis univariado las manifestaciones clínicas, radiológicas, recuento total de leucocitos y complicaciones en los casos confirmados. Se encontró significancia estadística en 2 variables clínicas: estridor OR 5.2 (p 0.01) y vómito postusivo OR 4.06 (p 0.029). En el estudio de Gentile y cols. [14] la tos paroxística (p 0.0004) y fiebre (p 0.008) fueron estadísticamente significativos. El diagnóstico de tos ferina continua siendo clínico, la presentación con paroxismos de tos cianotizantes y asociación a otros hallazgos como estridor y vomito postusivo debe orientar al clínico a considerar la infección por *Bordetella pertussis*, como ha sido publicado extensamente, en niños pequeños la presentación puede ser atípica y puede incluir cuadros clínicos variables con tos de duración menor de 7 días, apnea o episodios de cianosis o bradicardia.

Es bien conocido que puede haber neumonía en la enfermedad por *B.pertussis*, en este estudio el 61% de los casos confirmados mostró alguna anormalidad en la radiografía de tórax y el 55.5% (10/18) curso con neumonía, el 50% de los casos (9/18) requirió ventilación mecánica y de ellos el 44% (4/9) presentó como complicación hipertensión pulmonar, esta fue estadísticamente significativa al comparar con los casos no confirmados OR 2.7 (p 0.047). Se registraron un total de 7 muertes en los casos confirmados OR 3.02 (p 0.007). La hipertensión pulmonar es una complicación asociada incremento de mortalidad en estudios previos [5,31]

La letalidad en este estudio fue del 36.8% (7/19) (edad media 2 meses) siendo mayor en el grupo menor de 3 meses (67%) (6/9). En Argentina fue del 6.8% (edad media 2 meses) [14], Panamá 8.3% [24], Uruguay 0% [27], México 6.5% [11], USA 9.4% [5], Nueva Zelandia 5.5% [31]. La letalidad fue mayor en

comparación con países desarrollados y países de la región latinoamericana. Al igual que otros estudios publicados la mayor mortalidad ocurrió en el grupo menor de 3 meses.

Al igual que los estudios previamente citados, la leucocitosis, linfocitosis y porcentaje de linfocitos fueron significativamente mayores en los casos confirmados. Este análisis de laboratorio rutinario puede ser utilizado como apoyo en la sospecha de tos ferina.

Limitaciones del estudio. Aunque se demostró significancia estadística en las variables clínicas citadas, el número de sujetos es demasiado pequeño. Es necesario estudiar un número mayor de sujetos para determinar la caracterización clínica de tos ferina en menores de 1 año a fin de definir cuál es la mejor definición de caso para este grupo etáreo y que claramente no está relacionada a la duración de la tos y la presentación clásica descrita en los libros.

Los hallazgos radiológicos de este estudio no fueron evaluados por médicos radiólogos y no fue utilizada una técnica estándar, la interpretación se obtuvo de las anotaciones consignadas en el expediente médico.

Coinfecciones e infecciones por Virus Respiratorios

Este estudio exploró la posibilidad de coinfección o la etiología respiratoria en un caso sospechoso de tos ferina; se determinó coinfección por virus respiratorios en 3 casos (1 adenovirus, 1 influenza A, 1 parainfluenza 1) y se estableció etiología viral en el 40% de los casos no confirmados a los que se realizó hisopado viral (17/40) (9 virus sincitial respiratorio, 2 adenovirus, 2 influenza A, 1 influenza B, 3 parainfluenza III,). Un estudio publicado recientemente en Brasil por Ferronato y cols. [40] en 67 pacientes con cuadro sospechoso de tos ferina estableció infección por *B. pertussis* en el 44% y por virus en el 26%, no hubo identificación etiológica en el 35% de los casos, se encontró coinfección en el 5% de los casos. Los hallazgos de nuestro estudio evidencian al igual que otras publicaciones que la coinfección por virus

respiratorios no es infrecuente en los enfermos de tos ferina, se desconoce si esto está asociado a mayor riesgo de complicaciones y muerte. El virus sincitial respiratorio parece tener importancia en los cuadros con síntomas parecidos a pertussis [23,40]

6.1 Conclusiones

- 6.1.1. Se confirmó infección por *B.pertussis* en 19 (28%), 16 a través de PCR, 2 por PCR y cultivo y 1 tuvo cultivo positivo pero PCR negativa.
- 6.1.2. El 74% (50/68) de los casos correspondió a infantes menores de 4 meses.
- 6.1.3. La mayoría de casos (96%) fueron originarios de los municipios del departamento de Guatemala
- 6.1.4. El 75% (51/68) de los sujetos estudiados no contaba con ninguna dosis de vacuna del esquema de inmunización primaria
- 6.1.5. Las variables clínicas que mostraron significancia estadística para la confirmación de infección por *Bordetella pertussis* fueron la presencia de estridor OR 5.2 (p 0.01) y vómito postusivo OR 4.06 (p 0.029).
- 6.1.6. La media de leucocitos totales fue de 41774 ± 22842 en los casos confirmados y de 18302 ± 14627 para los casos no confirmados.
- 6.1.7. Hubo diferencia significativa entre la comparación de medias de leucocitos y linfocitos entre casos confirmados y no confirmados
- 6.1.8. Las complicaciones que fueron estadísticamente significativas fueron: hipertensión pulmonar OR 2.7 (p 0.047) y muerte OR 3.02 (p 0.007)
- 6.1.9. El porcentaje de letalidad en este estudio fue del 36.8% (7/19) (media de edad 2 meses) siendo mayor en el grupo menor de 3 meses (67%) (6/9).
- 6.1.10. Mediante entrevista se identificó el posible contacto enfermo en el hogar en el 44% de los casos (30/68), se realizaron hisopados nasofaríngeos a 7 contactos que fueron negativos por PCR, se realizaron 15 hisopados nasofaríngeos en las madres que fueron negativos.
- 6.1.11. Se identificaron 3 coinfecciones virales (adenovirus, influenza A y Parainfluenza 1) en los casos confirmados. En los casos no

confirmados se identificó infección viral en el 40% (17/40) de los casos a los que se realizó hisopado viral (9 virus sincitial respiratorio, 2 adenovirus, 2 influenza A, 1 influenza B, 3 parainfluenza III).

6.2 Recomendaciones

- 6.2.1. Se sugiere a las autoridades de salud y comunidad médico científica continuar con los estudios de vigilancia, caracterización clínica y epidemiológica de tos ferina en Guatemala
- 6.2.2. Fortalecer la vigilancia epidemiológica de tos ferina a nivel nacional basada en diagnóstico a través de biología molecular y cultivo
- 6.2.3. Socializar la definición de caso actualizada de tos ferina a nivel nacional
- 6.2.4. Capacitar al personal para la toma y manejo del hisopado nasofaríngeo
- 6.2.5. Concientizar y sensibilizar al trabajador de salud pública sobre la importancia de la tos ferina.
- 6.2.6. Conducir estudio para identificar factores de riesgo asociado a severidad y muerte en el grupo menor de 3 meses
- 6.2.7. Conducir estudios sobre impacto de estrategias tempranas de vacunación, vacunación a adolescentes y embarazadas a fin de evaluar cambios en las políticas de vacunación.
- 6.2.8. Las autoridades de gobierno, clínicos, epidemiólogos y químicos biólogos deben ser actores principales en el diseño y desarrollo de estos estudios.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. American Academy of Pediatrics. Tos ferina. En: Pickering LK, Baker CJ, Long SS, McMillan JA, Dirs. Red Book: Enfermedades Infecciosas en Pediatría 27a. ed. Editorial Médica Panamericana Madrid; **2012**:
2. Aquino A, Martínez-Leyva G, Saltigeral P, et al. Real-time PCR-based detection of Bordetella pertussis in Mexican children and their contacts: a multicenter study. Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City. Presented at the 52nd ICAAC 2012; 9 12 September **2012**; San Francisco; CA; USA (Poster G3-1563)
3. Aristimuño H, et al. Whooping cough in the first year of life in a region with high vaccination coverage. An Pediatr (Barc). **2011** Sep;75(3):194-8
4. Beltrán S. et al. Consensus on the clinical and microbiologic diagnosis of Bordetella pertussis, and infection prevention. Salud Pública Mex. **2011** Jan-Feb;53(1):57-65.
5. Berget JT, Carcillo JA, et al. Critical Pertussis Illness in Children: A multicenter prospective cohort study. Pediatr Crit Care Med **2013** May;14(4):356-365.
6. Cloud, J, et al. Impact of nasopharyngeal swab types on detection of Bordetella pertussis by PCR and culture. J. Clin. Microbiol **2002**. 40:3838–3840.
7. Craig AS, Wright SW, Edwards KM, et al. Outbreak of pertussis on a college campus. Am J Med **2007**; 120:364.
8. Cloud J, et al. Impact of Nasopharyngeal Swab Types on Detection of Bordetella pertussis by PCR and Culture. J. Clin. Microbiol. **2002**, 40(10):3838
9. Esposito S, et al. Long-term pertussis-specific immunity after primary vaccination with a combined diphtheria, tetanus, tricomponent acellular pertussis, and hepatitis B vaccine in comparison with that after natural infection. Infect Immunol **2001**;69(7):4516-4520

10. Esteves-Jaramillo A, et al. Booster vaccination against Bordetella pertussis during pregnancy. *Ginecol Obstet Mex.* **2012** May;80(5):341-7.
11. Falleiros Arlant LH, de Colsa A, Flores D, Brea J, Avila Aguero ML, Hozbor DF. Pertussis in Latin America: epidemiology and control strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **2014** Oct;12(10):1265-75.
12. Fallo A, Manonelles G, Hozbor D, Lara C, Huespe M, Mazzeo S, Canle O, Galas M, López E. Pertussis seroprevalence in adults, post-partum women and umbilical cord blood. *Arch Argent Pediatr.* **2014** Aug;112(4):315-22.
13. Flores D, Lara C Zurita E, et al. Epidemiology of pertussis in Argentina during the 2006-2010 period: trends by age group and status of vaccination. Possible source of infection. Ninth International Bordetella Symposium; 30 September – 3 October **2010**; Baltimore, ML, USA
14. Gentile A, Romanin VS, Juárez Mdel V, Lución MF, Marques Mde L, Mistchenko AS. Epidemiology of Bordetella pertussis in a children's hospital. *Arch Argent Pediatr.* **2014** Feb;112(1):26-32.230
15. Heininger U, et al. The protective role of maternally derived antibodies against bordetella pertussis in young infants. *The Pediatric Infectious Disease Journal* **2013** Publish Ahead of Print DOI: 10.1097/INF.0b013e318288b610
16. Informe Final de la XIX y XX Reunión del Grupo Técnico Asesor sobre Enfermedades Prevenibles por Vacunación. Buenos Aires, Argentina, Julio 2011 y Washington DC, Octubre de **2012**.
17. Klein NP, Bartlett J, Rowhani-Rahbar A, Fireman B, Baxter R. Waning protection after fifth dose of acellular pertussis vaccine in children. *N Engl J Med.* **2012** sep 13;367(11):1012-9.
18. Krantz I, Norrby SR, Trollfors B. Salbutamol vs. placebo for treatment of pertussis. *Pediatr Infect Dis* **1985**; 4:638.
19. Kusters K, et al. Evaluation of a real-time PCR assay for detection of Bordetella pertussis and B parapertussis in clinical samples. *J Med Microbiol* **2001**; 50: 436–40.

20. Lurie G, Reed PW, et al. When to discharge children hospitalized with pertussis?. *Acad Pediatr* **2009**;9(2):118-22
21. Marconi, G.P., Ross, L.A., Nager, A.L. An resurgence in pertussis: epidemiology and trends. *Pediatric Emergency Care* **2012** 28 (3), 215–219.
22. Ministerio de Salud Guatemala, Base de datos B.pertussis 2006-2012. Laboratorio Nacional Guatemala **2012**
23. Moreno Samos M, et al. Incidencia y gravedad de la tosferina en lactantes coinfectados por el virus respiratorio sincitial. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. **2014** <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.09.009> (In press)
24. Nieto J, et al. Hospitalizaciones por Bordetella pertussis: experiencia del Hospital del Niño de Panamá, período 2001-2008. *An Pediatr Barc* **2010**;72(3):172-178
25. Nitsch-Osuch, A., et al., Epidemiological and immunological reasons for pertussis vaccination in adolescents and adults. *Respir Physiol Neurobiol* **2013**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.resp.2013.02.007> (In press)
26. Nooitgedagt JE, et al. Pertussis in young infants: a dangerous disease with non-specific signs. *Ned Tijdschr Geneeskd*. **2013**;157(4):A5573
27. Quian, Jorge et al . Infecciones por Bordetella pertussis en niños menores de un año hospitalizados y sus contactos del hogar. *Arch. Pediatr. Urug.*, Montevideo, v. 77, n. 3, oct. **2006** .
28. Revisión de la situación del coqueluche (tos ferina) en las Américas, Buenos Aires, 22 de marzo de 2012. Publicado en el sitio de la OMS, Global Immunization Newsletters (GIN), Marzo **2012**
29. Sandra M. et al. Crucial role of antibodies to pertactin in Bordetella pertussis immunity. *The Journal of Infectious Disease* **2003**; 188:738-742
30. Snap B. Bordetella pertussis infection in infants: a reemerging disease. *Adv Neonatal Care*. **2013** Apr;13(2):103-7.

31. Surridge J, Segedin E, et al. Pertussis requiring intensive care. *Arch Dis Child* **2007**; 92:970-975
32. Takeuchi M, et al. The incidence of pertussis hospitalizations among Japanese infants: excess hospitalizations and complications?. *Acad Pediatr* **2009**;9(2):118-22
33. Taranger J, Trollfors B, Lagergård T, et al. Correlation between pertussis toxin IgG antibodies in postvaccination sera and subsequent protection against pertussis. *J Infect Dis* **2000**; 181:1010.
34. Tozzi AE, Ravà L, Ciofi degli Atti ML, et al. Clinical presentation of pertussis in unvaccinated and vaccinated children in the first six years of life. *Pediatrics* **2003**; 112:1069.
35. Villarreal-Pérez JZ, Ramírez-Aranda JM, Rodríguez-Rodríguez I, et al. Absence of antibodies against *Bordetella pertussis* in pregnant women and newborns in the state of Nuevo Leon. *J Perinat Med.* **2014** Sep 1;42(5):649-54. doi: 10.1515/jpm-2013-0263. PubMed PMID: 24572974.
36. Wang Ch, et al. Seroprevalence of *bordetella pertussis* antibody in children and adolescents in china. *Pediatr Infect Dis J* **2011**;30: 593–596
37. WHO Challenges in global immunization and the Global Immunization Vision and Strategy 2006-2015. *Wkly Epidemiol. Rec.* **2007**; 87:190-5
38. WHO. Immunization surveillance, assesment and monitoring, 2008. Available from: www.who.int/immunization_monitoring/diseases/pertussis
39. Wood N, et al. Acellular pertussis vaccine at birth and one month induces antibody responses by two months of age. *Pediatr Infect Dis J* **2010**;29: 209–215
40. Ferronato AE, Gilio AE, Vieira SE. Respiratory viral infections in infants with clinically suspected pertussis. *J Pediatr (Rio J).* **2013** Nov-Dec;89(6):549-53.

VIII. ANEXOS

Tabla No. 1

Positividad a PCR y Cultivo de *B. pertussis* de los casos sospechosos de tos ferina menores de 1 año de edad. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a octubre 2014

PCR <i>B. pertussis</i>	n = 68	(%)
Positivo	19/68	(28)
Negativo	42/68	(61.7)
No realizado	9/68	(13.3)
Cultivo <i>B. pertussis</i>		
Positivo	3/68	(4.4)
Negativo	41/68	(60.3)
No realizado	24/68	(35.3)
Método de confirmación tos ferina		
PCR <i>B. pertussis</i>	16/19	(85)
Cultivo <i>B. pertussis</i>	1/19	(5)
PCR + Cultivo <i>B. pertussis</i>	2/19	(10)

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 2

Características demográficas de los pacientes con enfermedad por *B. pertussis* y de los casos no confirmados sospechosos de tos ferina menores de 1 año de edad, distribución según edad, sexo y procedencia. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014.

	Casos confirmados		No confirmados		Total	
Edad (meses)	n = 19	(%)	n = 49		n = 68	(%)
X ± DE	2.7 ± 1.8		2.3 ± 2.7			
< 3 meses	9	(47)	34	(69)	43	(63)
3 to 6 meses	8	(42)	10	(20)	18	(26)
>6 meses	2	(11)	5	(11)	7	(11)
Sexo						
Masculino	11	(58)	26	(53)	37	(54)
Femenino	8	(42)	23	(47)	31	(46)
Procedencia						
Guatemala	17	(89)	48	(98)	65	(96)
Salamá	2	(11)	0	(0)	2	(3)
Quiché	0	(0)	1	(2)	1	(1)
Municipio Guatemala						
Guatemala	3	(18)	11	(23)	14	(22)
Amatitlán	0	(0)	2	(4)	2	(3)
Fraijanes	0	(0)	1	(2)	1	(2)
Mixco	5	(29)	14	(29)	19	(29)
Petapa	2	(12)	1	(2)	3	(5)
San Juan Sacatepéquez	4	(24)	8	(17)	12	(18)
San Pedro Sacatepéquez	1	(6)	0	(0)	1	(2)
San Pedro Ayampuc	0	(0)	1	(2)	1	(2)
Santa Catarina Pinula	0	(0)	1	(2)	1	(2)
Villa Canales	1	(6)	3	(6)	4	(6)
Villa Nueva	1	(6)	6	(13)	7	(11)

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 3

Estado de inmunización de los pacientes menores de 1 año de edad confirmados y no confirmados de infección por *B.pertussis*, distribución según grupo etario. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014.

Confirmados		n = 19 (%)			
Edad (meses)	0 dosis	1 dosis	2 dosis	3 dosis	Total casos
< 2 meses	5 (100)	NA	NA	NA	5
2 a 4 meses	6 (67)	3	NA	NA	9
> 4 a 6 meses	1 (33)	2	0	NA	3
> 6 meses	1 (50)	1	0	0	2
No Confirmados		n = 49 (%)			
Edad (meses)	0 dosis	1 dosis	2 dosis	3 dosis	Total casos
< 2 meses	24 (100)	NA	NA	NA	24
2 a 4 meses	8 (66,6)	4	NA	NA	12
> 4 a 6 meses	4 (50)	3	1	NA	8
> 6 meses	2 (40)	0	1	2	5

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 4

Manifestaciones clínicas, hallazgos radiológicos, recuento de leucocitos y complicaciones de pacientes con enfermedad por *B. pertussis* y de los casos no confirmados sospechosos de tos ferina menores de 1 año de edad. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014.

Manifestaciones clínicas	Casos confirmado n = 19 (%)	Casos no confirmado n = 49 (%)	OR	p
Tos paroxística	19/19 (100)	48/49 (98)	Indefinido	0.788
Estridor	8/19 (42.1)	6/49 (12.2)	5.2 (1.5-18.16)	0.01
Fiebre	10/19 (52.6)	21/49 (45.6)	1.48 (0.51-4.29)	0.323
Vómito postusivo	14/19 (73.7)	20/49 (40.8)	4.06 (1.26-13.07)	0.029
Estertores	10/19 (52.6)	23/49 (46.9)	1.25 (0.43-3.62)	0.439
Cianosis	17/19 (89.4)	37/49 (81.6)	1.91 (0.37-9.79)	0.714
Apnea	4/19 (21.05)	6/49 (14.3)	1.6 (0.41-6.25)	0.364
Duración de la tos				
Promedio (X±DE)	8.1 ± 5.8	10 ± 7.2		0.163
< 7 días	7/19 (36.8)	14/49 (28.6)	1.45 (0.48-4.47)	0.35
≥ 7 días	13/19 (68.4)	30/49 (61.2)	1.37 (0.45-4.22)	0.397
Hallazgos radiológicos				
Infiltrado alveolar (consolidado)	4/19 (21)	8/49 (16.3)	1.37 (0.36-5.21)	0.444
Infiltrado intersticial	3/19 (15.8)	11/49 (24.4)	0.64 (0.16-2.63)	0.403
Infiltrado mixto	4/19 (21)	6/49 (13.3)	1.91 (0.47-7.71)	0.448
Normal	8/19 (42.2)	24/49 (49)	0.75 (0.26-2.20)	0.407
Recuento Leucocitos				
Media Leucocitos (X±DE)	41774 ± 22842	18302 ± 14627		0.017
Media Linfocitos	23467 ± 12063	8272 ± 5364		0.001
Media Porcentaje linfocitos	58.6 ± 20.6	50 ± 17		0.384
Complicaciones				p
Neumonía	11/19 (57.8)	24/49 (48.9)	1.29 (0.59-2.82)	0.349
Uso de ventilación mecánica	10/19 (52.6)	14/49 (30.6)	1.91 (0.89-4.06)	0.08
Días ventilación mecánica (X±DE)	4.3 ± 3.4	5.2 ± 3.1		
Hipertensión pulmonar	4/19 (21)	2/49 (4)	2.7 (1.3-5.6)	0.047
Muerte	7/19 (36.8)	4/49 (8.2)	3.02 (1.54-5.92)	0.007
Convulsiones	0/19	0/49	NA	NA
Hemorragias	0/19	0/49	NA	NA
Estancia Hospitalaria				p
Promedio (X±DE)	8.1 ± 5.9	9.5 ± 6.9		0.759
< 7 días	6/19 (31.6)	19/49 (38.8)	0.72 (0.24-2.24)	0.397
≥ 7 días	13/19 (68.4)	30/49 (61.2)	1.37 (0.44-4.22)	0.397

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 5

Defunciones y porcentaje de letalidad de los casos confirmados de infección por *B. pertussis* menores de 1 año de edad, distribución según grupo etáreo. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014.

Edad (meses)	<i>f</i>	(%) letalidad	Total de casos
< 3 meses	5	(55)	9
3 a 6 meses	1	(13)	8
> 6 meses	1	(50)	2
Total	7	(36.8)	19

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 6

Diagnóstico de infección viral en los casos confirmados de infección por *B. pertussis* y de los casos no confirmados sospechosos de tos ferina menores de 1 año de edad. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014

	Caso confirmado	Caso no confirmado
	n= 19 (%)	n= 49 (%)
Adenovirus	1 (5.2)	2 (4)
Influenza A (H1N1)	1 (5.2)	2 (4)
Influenza B	0	1 (2)
Parainfluenza I	1 (5.2)	0
Parainfluenza III	0	3 (6)
Virus Sincitial Respiratorio	0	9 (18.3)
Negativo	10 (53)	28 (57.1)
No realizado	5 (26)	9 (18.3)

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 7

Tratamiento antibiótico utilizado en casos confirmados de infección por *B. pertussis* y no confirmados en menores de 1 año de edad con cuadro sospechoso de tos ferina. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014

Tratamiento Antibiótico	Frecuencia	%
Azitromicina	34	(50)
Claritromicina	30	(44)
Ninguno	4	(6)
Total	68	(100)

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Tabla No. 8

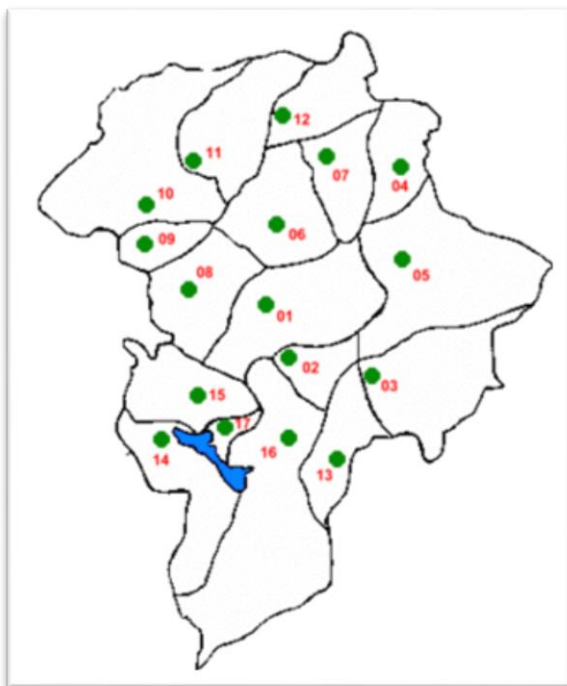
Número de casos y tasa de hospitalización de casos confirmados de infección por *B. pertussis* en menores de 1 año de edad. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014

Edad (meses)	Número de egresos	Tasa x 1000
< 12	1585	12x1000

Fuente: Departamento de Estadística, Hospital Roosevelt.

Gráfico No. 1

Mapa del Departamento de Guatemala, distribución geográfica de los casos confirmados y no confirmados de enfermedad por *B. pertussis* menores de 1 año de edad. Pediatría Hospital Roosevelt. Noviembre 2013 a Octubre 2014.

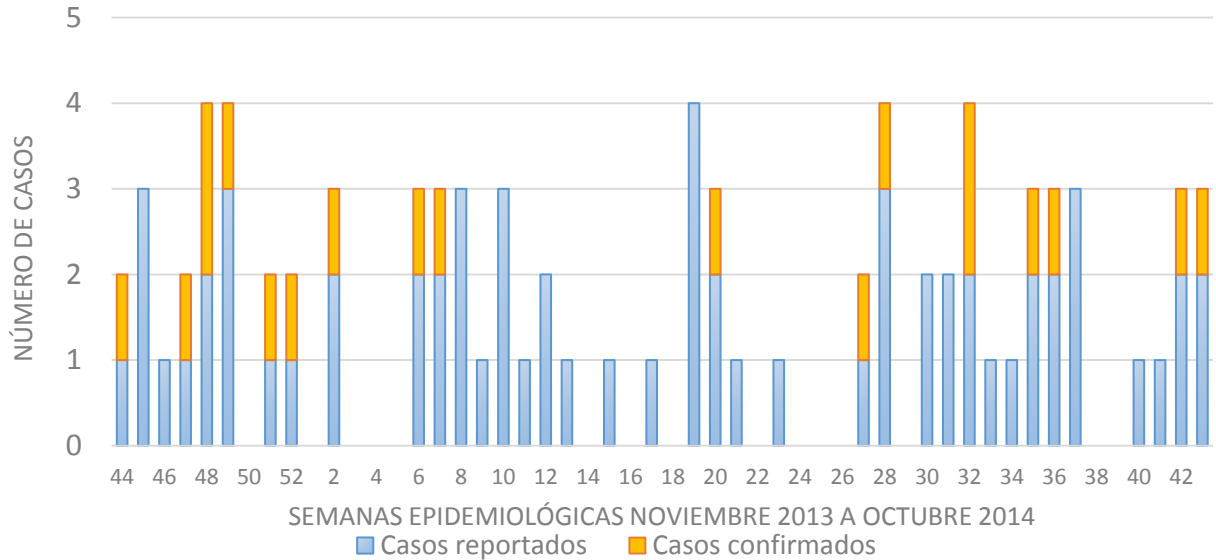


No.	Municipio	Confirmados	No confirmados
01	Guatemala	4	11
02	Santa Catarina Pinula	0	1
07	San Pedro Ayampuc	0	1
08	Mixco	6	14
09	San Pedro Sacatepéquez	1	0
10	San Juan Sacatepéquez	4	8
13	Fraijanes	0	1
14	Amatitlán	0	2
15	Villa Nueva	0	6
16	Villa Canales	1	3
17	Petapa	2	1

Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Gráfica No. 2

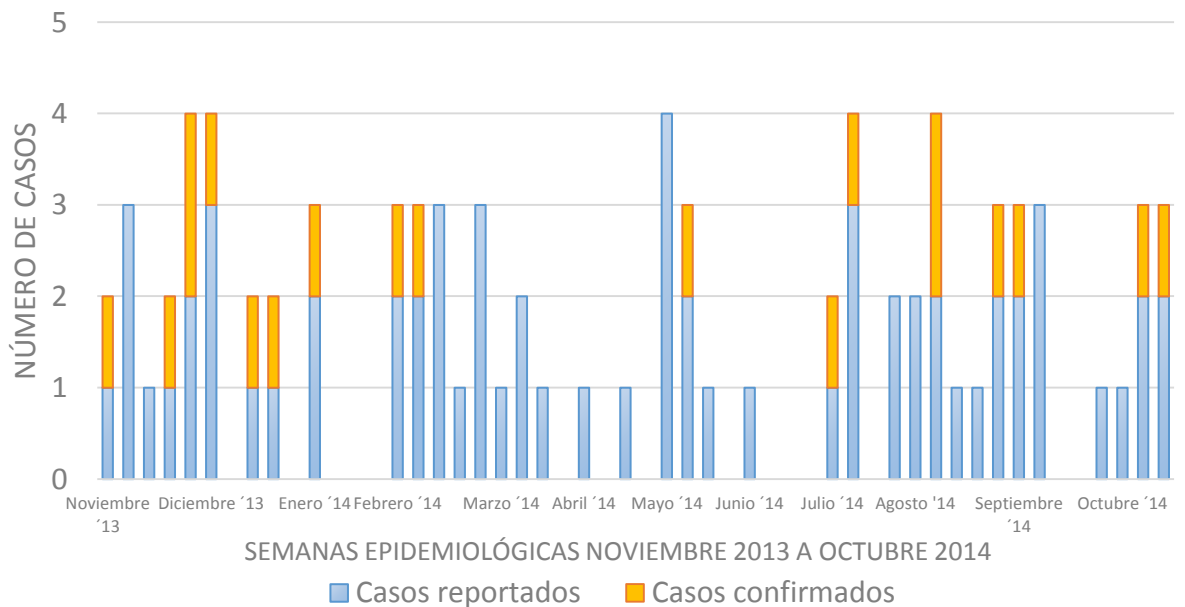
Curva Epidemiológica de tos ferina en menores de 1 año de edad según semana epidemiológica. Pediatría Hospital Roosevelt. De 1 noviembre 2013 al 31 de octubre 2014.



Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Gráfica No. 3

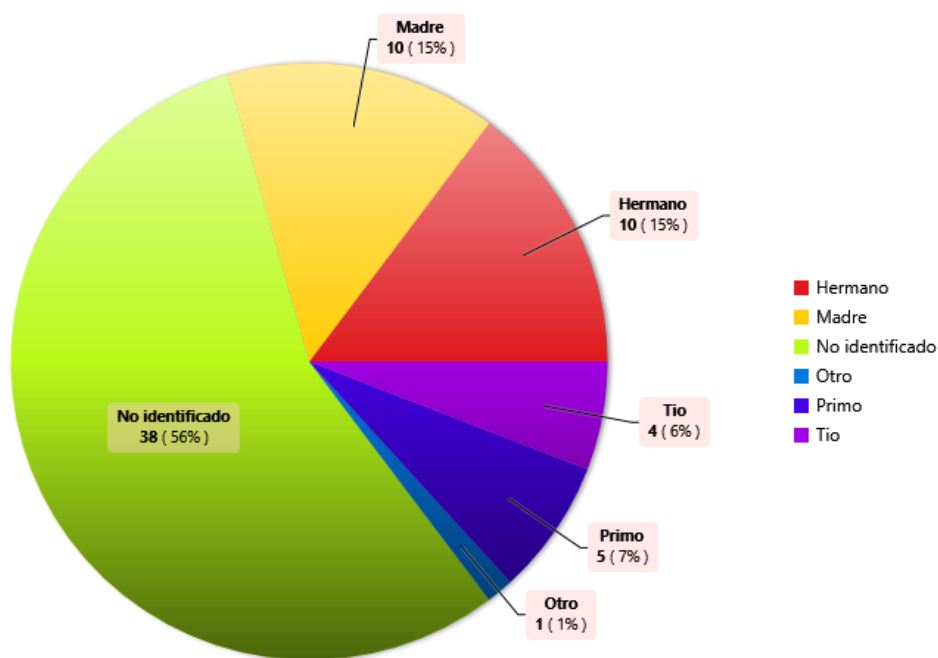
Curva Epidemiológica de tos ferina en menores de 1 año de edad según mes. Pediatría Hospital Roosevelt. De 1 noviembre 2013 al 31 de octubre 2014.



Fuente: Instrumento de recolección de datos, Base de datos Epi Info ® 7

Gráfica No. 4

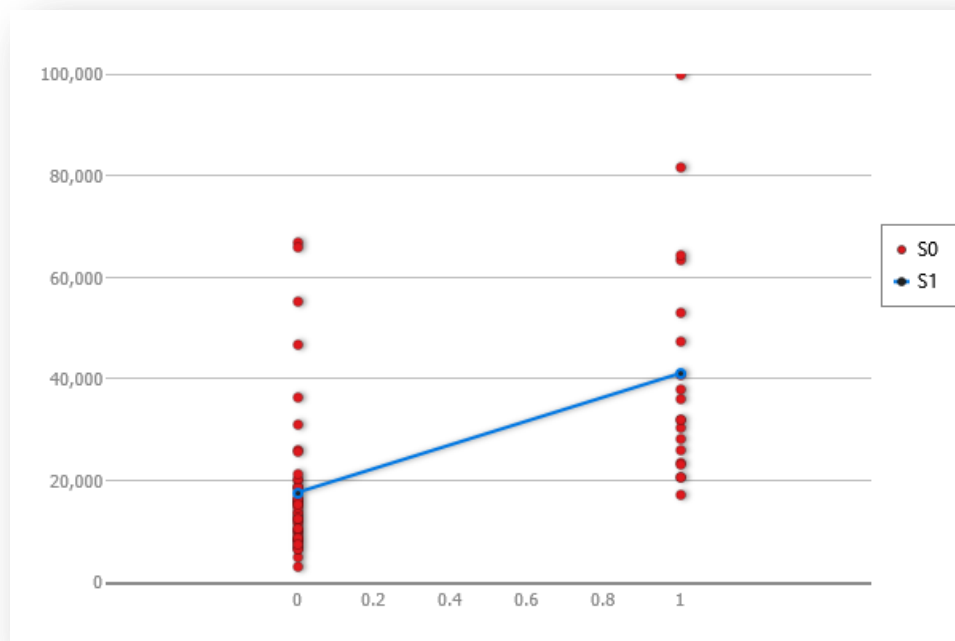
Contacto sintomático en el hogar identificado en casos confirmados de infección por *B.pertussis* y no confirmados en menores de 1 año de edad con cuadro sospechoso de tos ferina. Pediatría Hospital Roosevelt. De 1 noviembre 2013 al 31 de octubre 2014.



Fuente: Tablero Visual Epi Info ® 7

Gráfica No. 5

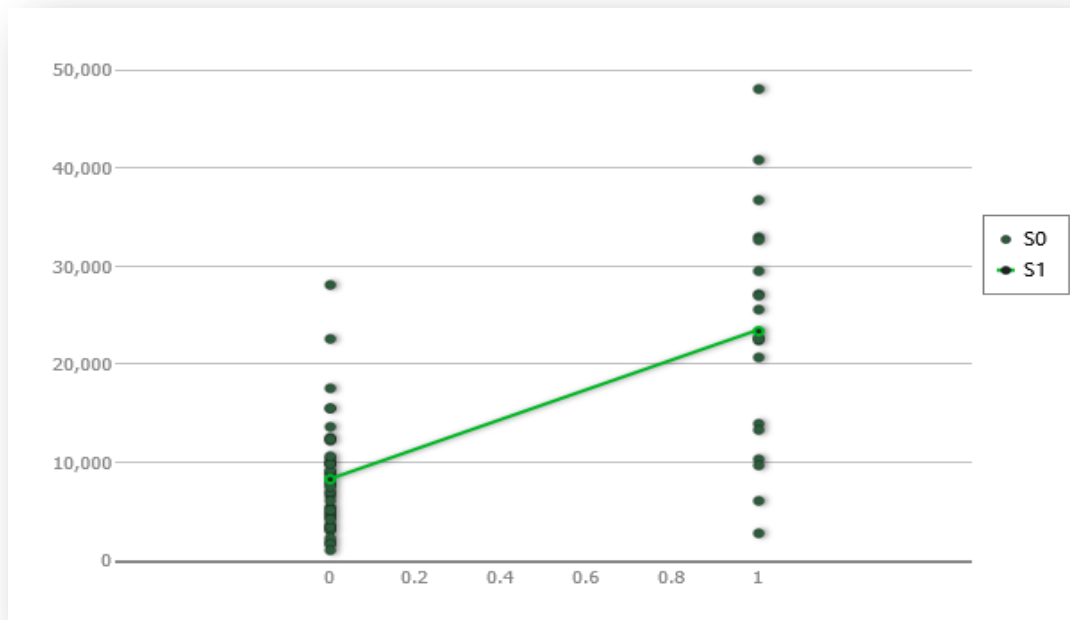
Gráfica de dispersión de Recuento Leucocitario Total en casos confirmados de infección por *B.pertussis* y no confirmados en menores de 1 año de edad con cuadro sospechoso de tos ferina. Pediatría Hospital Roosevelt. De 1 noviembre 2013 al 31 de octubre 2014.



Fuente: Tablero Visual Epi Info ® 7

Gráfica No. 6

Gráfica de dispersión de Recuento Linfocitario Total en casos confirmados de infección por *B.pertussis* y no confirmados en menores de 1 año de edad con cuadro sospechoso de tos ferina. Pediatría Hospital Roosevelt. De 1 noviembre 2013 al 31 de octubre 2014.



Fuente: Tablero Visual Epi Info ® 7



BOLETA RECOLECCIÓN DE DATOS



TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN

“INFECCIONES POR *BORDETELLA PERTUSSIS* EN MENORES DE UN AÑO”
(TESIS DE MAESTRÍA EN INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA, HOSPITAL ROOSEVELT, UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA)

HOJA 1 DE 2

No. De Boleta				Fecha de enrolamiento									
Código asignado													
Registro expediente						Ingreso			Egreso				
Días de Hospitalización		ENCAM.				UCIP				Total			
Nombre										Sexo		m	f
Fecha de Nacimiento						Edad			Edad madre				
Procedencia (Municipio, Departamento)													
Ocupación de los padres													
Vacunación	DTP	DtaP	1	2	3	N	Uso Antibióticos		Si	No	Días Tipo		
Manifestaciones clínicas (marque con X) <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Tos paroxística<input type="radio"/> Estridor o silbido<input type="radio"/> Fiebre<input type="radio"/> Vómito postusivo<input type="radio"/> Cianosis<input type="radio"/> Neumonía<input type="radio"/> Apnea<input type="radio"/> Duración de la tos <input type="text"/>						Complicaciones (marque con X) <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Hemorragia subconjuntival<input type="radio"/> Hemorragia intracraneana<input type="radio"/> Ventilación mecánica<input type="radio"/> Hipertensión pulmonar<input type="radio"/> Convulsiones<input type="radio"/> Muerte							
						Tratamiento antibiótico instituido <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Azitromicina<input type="radio"/> Claritromicina<input type="radio"/> Ninguno							Rayos X Tórax <ul style="list-style-type: none"><input type="radio"/> Infiltrado alveolar (consolidado)<input type="radio"/> Infiltrado intersticial<input type="radio"/> Infiltrado mixto<input type="radio"/> Normal
						Contacto		Edad		Síntomas: Si/No			
						Madre							
						Padre							

R. Leucocitos	%	Hermano		
R. Linfocitos				
Parte II: Muestras enviadas y resultados				
Muestra	Fecha envío	Resultado	Comentario	
Cultivo <i>B.pertussis</i> Paciente				
PCR <i>B.pertussis</i> Paciente				
PCR o IFI Virus multiplex				
Cultivo R-L Contacto				
PCR <i>B.pertussis</i> contacto				
Comentarios adicionales 				

PERMISO DEL AUTOR PARA COPIAR EL TRABAJO

El autor concede permiso para reproducir total o parcialmente y por cualquier medio la tesis titulada: "INFECCIONES POR BORDETELLA PERTUSSIS EN MENORES DE 1 AÑO" para propósitos de consulta académica. Sin embargo, quedan reservados los derechos de autor que confiere la ley, cuando sea cualquier otro motivo diferente al que se señala lo que conduzca a su reproducción o comercialización total o parcial.

